



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA
E ENGENHARIA DE MATERIAIS

POLYANA TARCIANA ARAÚJO DOS SANTOS

OBTENÇÃO DE HÍBRIDOS DE NANOFERRITA/SiO₂/QUITOSANA
PARA USO EM BIOSSENSORES

CAMPINA GRANDE - PB
2015

POLYANA TARCIANA ARAÚJO DOS SANTOS

OBTENÇÃO DE HÍBRIDOS DE NANOFERRITA/SiO₂/QUITOSANA
PARA USO EM BIOSSENSORES

Orientadora: Profa. Dr.^a Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa

CAMPINA GRANDE - PB

2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

- S237o Santos, Polyana Tarciana Araújo dos.
Obtenção de híbridos de nanoferrita/SiO₂/quitosana para uso em biossensores / Polyana Tarciana Araújo dos Santos. – Campina Grande, 2015.
113 f. : il. color.
- Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2015.
- "Orientação: Prof.^a Dr.^a Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa".
Referências.
1. Cerâmica - Materiais. 2. Nanoferritas. 3. Reação de Combustão.
4. Materiais Híbridos. I. Costa, Ana Cristina Figueiredo de Melo. II. Título.

CDU 666.3-1(043)

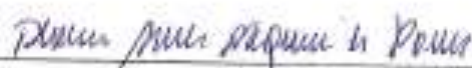
**OBTENÇÃO DE HÍBRIDOS DE NANOFERRITAS/SiO₂/QUITOSANA PARA
USO EM BIOCENSORES**

POLYANA TARCIANA ARAÚJO DOS SANTOS

Tese Aprovada em 29/01/2015 pela banca examinadora constituída dos seguintes membros;



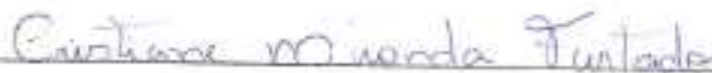
Dr.^a Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa
Orientadora
PPG-CEMat/UAEMA/UFCG



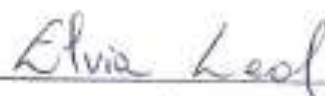
Dr.^a Alana Abrantes Nogueira de Pontes
Examinadora Externa
UAM/CCBS/UFCG



Dr.^a Kaline Melo de Souto Viana
Examinadora Externa
EC&T/UFRN



Dr.^a Cristiane Miranda Furtado
Examinadora Externa
N.S/FMN



Dr.^a Elvia Leal
Examinadora Externa
UFCG

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por mais uma etapa vencida.

Ao meus pais, que foram os meus primeiros mestres na minha vida, os responsáveis pelos primeiros ensinamentos, por toda educação, amor, confiança e incentivo.

Aos meus irmãos, por estarem sempre ao meu lado me apoiando para que continue sempre seguindo em frente na busca de conhecimento.

Ao meu esposo Paulo pelo companheirismo e incentivo.

A Dra. Ana Cristina Figueiredo de Melo Costa, pela orientação, compreensão e grande apoio, sem os quais este trabalho não se realizaria.

Aos amigos do Laboratório de Síntese de Materiais Cerâmicos (LabSMaC) que me proporcionaram ao longo desta pesquisa, anos de convivência, crescimento pessoal e profissional, que ajudaram de alguma forma para realização deste trabalho.

A Sheila pela ajuda nos ensaios de citotoxicidade realizados no Laboratório Biosíntesis P&D do Brasil LTDA em São Paulo – SP.

Ao professor Daniel Reynaldo Cornejo pelas análises de medidas magnéticas.

A professora Ruth Herta G. Aliaga Kiminami pelas análises de MEV e MET.

Ao programa de pós-graduação em Ciências e Engenharia de Materiais: coordenadores, professores e funcionários por toda atenção, ensinamentos e dedicação.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

RESUMO

Neste trabalho de pesquisa foi obtido um material híbrido a base de nanoferritas $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 modificada a superfície com agente silano e funcionalizadas com quitosana visando seu uso como biossensores. Para este fim, as nanoferritas foram sintetizadas por reação de combustão e silanizadas com o 3-aminopropiltrimetoxissilano. A funcionalização foi realizada pelo método de evaporação do solvente usando o biopolímero quitosana. Todas as amostras foram caracterizadas por difração de raios X, espectrometria de infravermelho por transformada de Fourier, espectroscopia por energia dispersiva de raios X, análise termogravimétrica, microscopia eletrônica de varredura, microscopia eletrônica de transmissão, teste de sedimentação e separação magnética, medidas magnéticas e análise in vitro por citotoxicidade. As amostras como sintetizadas apresentaram a formação da fase única do espinélio em estudo com característica nanométrica e após a formação do híbrido a estrutura do material foi mantida. Nos espectros de infravermelho observaram-se bandas de absorção características das nanoferritas e bandas referentes à presença do agente silano e da quitosana. Por meio das micrografias observou-se a formação de aglomerados de aspecto frágil, e após silanização e funcionalização observou-se uma morfologia com aglomerados de aspecto mais rígido constituídos de nanopartículas fortemente ligadas. A análise termogravimétrica mostrou que as nanoferritas apresentaram baixa perda de massa e que após formação do híbrido houve um aumento da perda de massa comprovando assim, a presença do agente silano e da quitosana. Quanto ao comportamento magnético, ambas as nanoferritas apresentaram elevada magnetização de saturação típica de materiais ferrimagnéticos, este comportamento foi mantido após formação do híbrido sendo adequado para aplicações biotecnológicas. A viabilidade celular das nanoferritas mostrou característica citotóxica para a ferrita $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e não citotóxica para a ferrita CoFe_2O_4 , a formação do híbrido favoreceu aumento da viabilidade celular em ambas as nanoferritas. Os materiais híbridos obtidos são promissores para o uso na nanobiotecnologia como biossensores e/ou em tratamento como diagnóstico clínico.

Palavras-chaves: nanoferritas, reação de combustão, materiais híbridos, biossensores.

ABSTRACT

In this research was obtained a hybrid material nanoferrites base $\text{Ni}_{0.5}\text{Zn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ and CoFe_2O_4 modified the surface with silane agent and functionalized chitosan aiming their use as biosensors. To this end, nanoferritas were synthesized by combustion and silanized with 3-aminopropyltrimethoxysilane. The functionalization was carried out by the solvent evaporation method using the biopolymer chitosan. All samples were characterized by X-ray diffraction, infrared spectroscopy by Fourier transform spectroscopy energy dispersive X-ray, thermal analysis, scanning electron microscopy, transmission electron microscopy, sedimentation test and magnetic separation, magnetic measurements and Analysis by in vitro cytotoxicity. The samples showed synthesized as the formation of spinel single phase with nanometer feature under study and after the formation of the hybrid structure of the material has been maintained. In the infrared spectra there were absorption bands characteristic of nanoferritas and bands related to the presence of the silane agent and chitosan. Through micrographs showed the formation of agglomerates frail and after silanization and functionalization was observed with a morphology more rigid aspect of tightly bound agglomerates of nanoparticles. Thermogravimetric analysis showed that the nanoferritas showed low weight loss and that after hybrid formation was increased mass loss thereby proving the presence of the silane agent and chitosan. As for the magnetic behavior, both nanoferritas had high magnetization typical saturation ferrimagnetic materials, this behavior continued after the hybrid formation is suitable for biotechnological applications. Cell viability nanoferritas showed characteristic for cytotoxic and non-cytotoxic ferrite $\text{Ni}_{0.5}\text{Zn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ to CoFe_2O_4 ferrite, the formation of hybrid favored increased cell viability in both nanoferritas. The obtained hybrid materials are promising for use in nanobiotechnology as biosensors and / or treatment and clinical diagnosis.

Keywords: *nanoferrites, combustion reaction, hybrid materials, biosensors*

LISTA DE FÍGURAS

Figura 1 - Histograma de publicações das NPMs em nanobiotecnologia entre período de 2011 a novembro de 2014.....	21
Figura 2 - Representação esquemática dos interstícios tetraédricos (sítios A) e interstícios octaédricos (sítios B) na estrutura espinélio.....	29
Figura 3 - Fluxograma da síntese química das NPMs em estudo.....	43
Figura 4 - Esquema ilustrativo da silanização das NPMs.....	45
Figura 5 - Esquema ilustrativo da funcionalização das NPMs.....	46
Figura 6 - Variação da temperatura da reação em função do tempo de reação referente às NPMs sintetizadas em triplicata (a) NZ e (b) Co.....	54
Figura 7 - Difrátogramas de raios X experimental e o padrão JCPDS para as ferritas em estudo (a) $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e (b) CoFe_2O_4	57
Figura 8 - Espectros na região do infravermelho referente às NPMs em estudo (a) $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e (b) CoFe_2O_4	60
Figura 9 - Curvas sobrepostas de TG e DrTG das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 como sintetizadas por reação de combustão: (a) NZ e (b) Co.....	65
Figura 10 - Curvas sobrepostas de TG e DrTG das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 silanizadas com o APTS: (a) NZS e (b) CoS.....	67
Figura 11 - Curvas sobrepostas de TG e DrTG das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 após funcionalização com quitosana: (a) NZQ e (b) CoQ.....	68
Figura 12 - Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura das NPMs obtidas por reação de combustão: (a) NZ escala de 20 μm ; (b) NZ escala de 5 μm ; (c) Co escala de 20 μm e (d) Co escala de 5 μm	71
Figura 13 - Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura das ferritas silanizadas com o APTS: (a) NZS escala de 20 μm ; (b) NZS escala de 5 μm ; (c) CoS escala de 20 μm e (d) CoS escala de 5 μm	72
Figura 14 - Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura das NPMs funcionalizada com a quitosana: (a) NZQ escala de 20 μm ; (b) NZQ escala de 5 μm ; (c) CoQ escala de 20 μm e (d) FoQ escala de 5 μm	73
Figura 15 - MET das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 obtidas por reação de combustão e seu padrão de difração (SADPs): (a) NZ e (b) Co...	74
Figura 16 - MET das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 silanizadas com APTS e seu padrão de difração (SADPs): (a) NZS e (b) CoS.....	75

Figura 17 - MET das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 funcionalizadas com quitosana e seu padrão de difração (SADPs): (a) NZQ e (b) CoQ.....	76
Figura 18 - Curvas de histerese M - H referentes às amostras das NPMs obtidas por reação de combustão, silanizadas com APTS e funcionalizadas com quitosana (a) $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$, (b) ampliação $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$, (c) CoFe_2O_4 e (d) ampliação CoFe_2O_4	78
Figura 19 - Teste <i>in vitro</i> de sedimentação, sem e com a presença de um ímã, para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$: (a) NZ, (b) NZS e (c) NZQ.....	81
Figura 20 - Teste <i>in vitro</i> de sedimentação, sem e com a presença de um ímã, para as NPMs de CoFe_2O_4 : (a) Co, (b) CoS e (c) CoQ.....	82
Figura 21 - Teste <i>in vitro</i> de separação magnética das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$: (a) NZ, (b) NZS e (c) NZQ.....	83
Figura 22 - Teste <i>in vitro</i> de separação magnética das NPMs de CoFe_2O_4 : (a) Co, (b) CoS e (c) CoQ.....	83
Figura 23 - Viabilidade de células de ovário de <i>hamster</i> na presença das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$: (a) NZ, (b) NZS e (c) NZQ.....	85
Figura 24 - Viabilidade de células de ovário de <i>hamster</i> na presença das NPMs de CoFe_2O_4 : (a) Co, (b) CoS e (c) CoQ.....	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos cátions nos sítios das estruturas espinélio normal e inversa.....	29
Tabela 2 - Diferentes sistemas de óxidos reportados em aplicações biológicas.....	31
Tabela 3 - Parâmetros avaliados durante as reações de combustão para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4	55
Tabela 4 - Cristalinidade, tamanho de cristalito para pico de maior intensidade (311) para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4	58
Tabela 5 - Percentuais de óxidos determinados por EDX presentes nas NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ como sintetizada, silanizada com APTS e funcionalizada com quitosana.....	62
Tabela 6 - Percentuais de óxidos determinados por EDX presentes nas NPMs de CoFe_2O_4 como sintetizada, silanizada com APTS e funcionalizada com.....	63
Tabela 7 - Temperatura de decomposição e perda de massa durante a análise termogravimétrica para as NPMs em estudo.....	70
Tabela 8 - Parâmetros magnéticos referentes às NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4	80
Tabela 9 - Eficiência de separação das NPMs em estudo.....	84
Tabela 10 - Quantidade e eficiência de GOx imobilizada.....	88

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AB₂O₄ - Estrutura do tipo espinélio normal

AGM - Magnetometria de gradiente alternado

APTES - Agente silano 3-aminopropiltrietoxissilano

APTS - Agente silano 3-aminopropiltrimetoxissilano

BSA – Albumina do soro bovino

C₅H₈O₂ – Fórmula molecular do glutaraldeído

CFC - Cúbica de face centrada

Co – Ferrita CoFe₂O₄ sintetizada

CoQ - Ferrita CoFe₂O₄funcionalizada com quitosana

CoS – Ferrita CoFe₂O₄silanizada

D = tamanho de cristalito

DF – Departamento de Física

DNA - Ácido desoxirribonucleico

DOX - Dexorubicina

DRX - Difração de raios X

EDX - Espectroscopia de fluorescência de raios X

FTIR - Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier

GOX – Glucose oxidase

GPTS - 3-glicidoxipropiltrimetoxissilano

H_r – Campo coercivo

LEB - Laboratório de Engenharia Bioquímica

MET - Microscopia eletrônica de transmissão

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

M_r – Magnetização residual

NFs - Nanoferritas

NPMs - Nanopartículas magnéticas

NPs - Nanopartículas inorgânicas

NZ - Ferrita Ni_{0,5}Zn_{0,5}Fe₂O₄ sintetizada

NZQ - Ferrita Ni_{0,5}Zn_{0,5}Fe₂O₄ funcionalizada com quitosana

NZS – Ferrita Ni_{0,5}Zn_{0,5}Fe₂O₄ silanizada

PBS - *Phosphate buffered saline*

PDMS - polissilicona

PEAD – Polietileno de alta densidade

PEG - Polietilenoglicol

PEI - Polietilenoimina

PMAA – Poli(ácido metacrílico)

PVAL - Poli(álcool vinílico)

PVP - Polivinilpirrolidona

RM – Ressonância magnética

TEOS – tetraetilortosilicato

TGA - Análise termogravimétrica

UAEMa – Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais

UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

USP – Universidade de São Paulo

VB1 – Violamicina B1

VTMS – Viniltrimetoxisilano

θ_{β} = representa o ângulo de Bragg

λ = comprimento de onda da radiação eletromagnética (Cu K = 1,5406)

σ – Desvio padrão

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Objetivo Geral.....	18
1.2 Objetivos Especificos.....	18
2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	20
2.1 Nanobiotecnologia.....	20
2.2 Nanopartículas Magnéticas.....	21
2.3 Aplicações Biomédicas das NPMs.....	23
2.3.1 <i>Ferrofluidos</i>	23
2.3.2 <i>Contraste para Imagem por Ressonância Magnética</i>	24
2.3.3 <i>Hipertermia Magnética</i>	25
2.3.4 <i>Carreador de Fármacos</i>	26
2.4 Nanoferritas.....	27
2.5 Materiais Híbridos.....	33
2.6 Agentes Silanos.....	35
2.7 Quitosana.....	38
3 METODOLOGIA.....	42
3.1 Materiais.....	42
3.2 Síntese Química das NPMs.....	42
3.2.1 Temperatura e Tempo.....	44
3.3 Silanização das NPMs.....	44
3.4 Funcionalização das NPMs.....	45
3.5 Técnicas de Caracterização.....	46
3.5.1 <i>Difração de Raios X - DRX</i>	46
3.5.2 <i>Espectrometria na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier - FTIR</i>	47
3.5.3 <i>Análise Química por Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva - EDX</i>	47
3.5.4 <i>Análise Termogravimétrica -TG</i>	48
3.5.5 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV</i>	48
3.5.6 <i>Microscopia Eletrônica de Transmissão - MET</i>	48
3.5.7 <i>Caracterização Magnética</i>	49
3.5.8 <i>Testes Magnéticos In Vitro</i>	49

3.5.8.1 Preparação da Solução Tampão do PBS.....	49
3.5.8.2 Teste de Sedimentação.....	50
3.5.8.3 Teste de Separação.....	50
3.5.9 Citotoxicidade.....	50
3.5.10 Teste de Imobilização da GOx.....	51
3.5.10.1 Método Bradford.....	51
3.5.10.2 Imobilização da GOx.....	52
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4.1 Tempo e Temperatura de Reação.....	54
4.2 Difração de Raios X - DRX.....	56
4.3 Espectroscopia na Região do infravermelho por Transformada de Fourier- FTIR.....	59
4.4 Análise Química por Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva – EDX.....	62
4.5 Análise Termogravimétrica - TG.....	64
4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV	71
4.7 Microscopia Eletrônica de Transmissão – MET.....	74
4.8 Caracterização Magnética	77
4.9 Teste Magnético In Vitro.....	81
4.9.1 Teste de Sedimentação.....	81
4.9.2 Teste de Separação.....	83
4.10 Citotoxicidade.....	85
4.11 Teste de Imobilização da GOx.....	88
5 CONCLUSÕES.....	90
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	92
REFERÊNCIAS.....	93
ANEXO.....	108
APÊNDICE.....	112

PUBLICAÇÕES

SANTOS, P. T. A.; ARAUJO, P. M. A. G.; ALBUQUERQUE, I. L. T.; OLIVEIRA, L. S. C.; COSTA, A. C. F. M. Imobilização da enzima GOx com ferritas CoFe_2O_4 e híbridos $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{APTS}$. In: 58º Congresso Brasileiro de Cerâmica, 2014, Bento Gonçalves - RS. 58 Congresso Brasileiro de Cerâmica, 2014.

SANTOS, POLYANA TARCIANA ARAÚJO; ARAÚJO, PASCALLY M. A. GUERRA; COSTA, A.C.F.M.; CORNEJO, DANIEL R. Magnetic Study of Nanoferritas CoFe_2O_4 Obtained by Reaction of Combustion. Materials Science Forum, v. 798-799, p. 402-406, 2014.

SANTOS, P. T. A.; ARAUJO, P. M. A. G. ; BICALHO, S. M. C. M. ; COSTA, A. C. F. M. Preparação e caracterização do híbrido $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{quitosana}$ para uso em nanobiotecnologia. In: 8º Congresso Latino Americano de Organos Artificiales, Biomateriales e Ingenieria de Tejidos, 2014, Rosário - Argentina. 8º Congresso LatinoAmericano de Organos Artificiales, Biomateriales e Ingenieria de Tejidos, 2014.

SANTOS, P. T. A.; SANTOS, P. T. A.; DANTAS, J.; COSTA, A. C. F. M. Estudo magnético de nanoferritas CoFe_2O_4 obtidas por reação de combustão. In: Congresso brasileiro de Cerâmica e Congresso Ibero-Americano de Cerâmica, 2013, Natal. 57º Congresso brasileiro de Cerâmica e 5º Congresso Ibero-Americano de Cerâmica, 2013.

SANTOS, P. T. A.; DANTAS, J.; SILVA, F. N ; SANTOS, P. T. A.; COSTA, A. C. F. M. Effect of silanization in the magnetic properties of $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ and CoFe_2O_4 ferrites. In: 6th Internacional Conference on Electroceramics, 2013, João Pessoa. ICE 2013 - 6th Internacional Conference on Electroceramics, 2013.

SANTOS, P. T. A.; ARAUJO, P. M. A. G.; COSTA, A. C. F. M.; CORNEJO, D. R. Estudo magnético das Nanoferritas Ni-Zn silanizadas com 3-aminopropiltrimetoxisilano. In: 12º Congresso Brasileiro de Polímeros, 2013, Florianópolis. 12º Congresso Brasileiro de Polímeros, 2013.

SANTOS, P. T. A.; CORNEJO, DANIEL; SANTOS, P. T. A.; LIRA, HÉLIO LUCENA; MELO COSTA, ANA CRISTINA FIGUEIREDO Magnetic Evaluation of Ni-Zn Ferrites Doped with Aluminium. Materials Science Forum (*Online*), v. 727-728, p. 528-532, 2012.

SANTOS, P. T. A. ; DANTAS, B. B. ; SANTOS, P. T. A. ; ARAUJO, P. M. A. G.; KIMINAMI, R. H. G. A.; COSTA, A. C. F. M. Study of silanization ferrite CoFe_2O_4 using the method of reflux with 3-aminopropyltrimethoxysilane. In: 5th

Latin American Conference on Metastable and Nanostructured Materials, 2012, São Carlos. Nanomat, 2012.

SANTOS, P. T. A.; SANTOS, P. T. A.; DANTAS, B. B.; ARAUJO, P. M. A. G.; COSTA, A. C. F. M. Síntese por reação de combustão e caracterização de nanopartículas de CoFe_2O_4 . In: 56° Congresso brasileiro de Cerâmica e Congresso Ibero-Americano de Cerâmica, 2012, Curitiba. 56° Congresso brasileiro de Cerâmica e 1° Congresso Ibero-Americano de Cerâmica - IX Brazilian Symposium on Glass and related Materials, 2012.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, a Nanociência e a Nanotecnologia são consideradas, como um dos mais fascinantes avanços nas tradicionais áreas do conhecimento e constituem um dos principais focos das atividades de pesquisa, desenvolvimento e inovação em todos os países industrializados. Desta forma, a pesquisa científica tem-se voltado para a obtenção de materiais como, por exemplo, as cerâmicas magnéticas, conhecidas por ferritas, que fazem parte de um grande grupo de materiais magnéticos em estudo, e que, devido as suas propriedades magnéticas e elétricas, despertam o interesse de inúmeros pesquisadores.

Uma das áreas de pesquisa que tem demonstrado um progresso permanente é a nanomedicina, onde nanopartículas inorgânicas (NPs) têm sido usadas em uma variedade de aplicações, sobretudo, no que diz respeito à imagiologia médica (diagnóstico por imagem) e terapia, que têm mostrado um potencial inigualável sobre os sensores tradicionais de diagnóstico, a exemplo de corantes orgânicos (YIN *et al.*, 2011; NAM *et al.*, 2012) e diagnósticos de câncer (YANG *et al.*, 2012).

Por outro lado na parte de tratamento clínico o uso destas NPs também tem emergido consideravelmente, não só em virtude de suas propriedades ópticas, elétricas, magnéticas e/ou propriedades eletroquímicas, mas principalmente pela capacidade de conjugação com moléculas ligantes que promovem o direcionamento a células alvo, o que tem atraído grande interesse para a área de tratamento, especificamente do câncer.

De modo particular, no tratamento do câncer as NPs a exemplo das ferritas são usadas no tratamento de tumores malignos, pois, quando expostas a elevada frequência de campo magnético, as NPs geram calor por meio de oscilação dos seus momentos magnéticos, induzindo a regressão dos tumores (BARBUCCI *et al.*, 2012). Outro campo em destaque nesta área é o transporte de fármacos com princípios ativos por estas nanopartículas e que superam os já existentes por apresentarem seletividade aos alvos no sistema biológico devido à sua funcionalização com antígenos (WOOD, 2006).

Como exemplos pode-se citar ainda o setor de diagnósticos clínicos, onde estas NPs podem ser extremamente viáveis para separação de DNA (MING et. al., 2009), imobilização de glicose (LEE et. al., 2012), biologia molecular para separação de ácidos nucleicos, biologia celular para separação de células alvo e organelas celulares (LANDFESTER e RAMIREZ, 2003), entre outros.

Porém, para estas aplicações as NPs precisam apresentar alta área de superfície, baixa aglomeração, boa dispersão em fluídos corpóreos para se locomover dentro do corpo humano e acima de tudo comportamento magnético que permita ser facilmente atraída por um ímã e desmagnetizem espontaneamente, comportamento esse que é conhecido pelo fenômeno de superparamagnetismo. No entanto, a maioria destas NPs é obtida com características ferrimagnéticas por consequência do tamanho de partícula acima de 50 nm. Assim para obtenção de NPs superparamagnéticas, são fatores de grande importância a escolha do método de síntese e das condições de processamento. Outro problema é que quando as partículas são nano, a área de superfície é muito elevada, o que fornece alta energia superficial que atua como força motriz para a aglomeração das NPs.

Assim, para solucionar ou minimizar estes problemas surge a formação de materiais híbridos que podem ser obtidos com duas matrizes distintas, inorgânica e orgânica. Desta forma, estes materiais podem apresentar novas propriedades devido a diferentes contribuições de cada um dos compostos em sua propriedade resultante, aumentando a sua aplicabilidade.

Para obter um material híbrido, estes materiais magnéticos precisam apresentar grupos funcionais na superfície das nanopartículas de modo a ter interação com as biomoléculas. Para isto, se faz necessário a modificação da superfície ou simplesmente a funcionalização das nanopartículas, com o auxílio de um agente de acoplamento que pode ser, por exemplo, um silano, tornando o material compatível às moléculas biológicas e assim, poder ser utilizado em processos de imobilização.

Como material orgânico que podem ser utilizados para funcionalização de nanopartículas magnéticas (NPMs), algumas moléculas poliméricas se destacam, por exemplo, o poli(álcool vinílico) (PVAL), dextran, metilmetracrilato, hidroxipropilmetilcelulose, silanos, carboxilmetilcelulose,

glutaraldeído e quitosana. Dentre estes, os silanos e a quitosana são promissores, pois estas moléculas apresentarem sítios reativos adequados para modificações químicas da superfície, o que permite a interação com biomoléculas, podendo resultar em aplicações biotecnológicas e/ou biomédicas.

As ferritas são materiais extremamente viáveis para obtenção de híbridos principalmente por suas propriedades magnéticas e capacidade de conjugação com materiais orgânicos ou organometálicos.

Diante deste contexto, este trabalho teve como finalidade sintetizar um material híbrido a base de nanoferritas $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 silanizadas e funcionalizadas com quitosana visando seu uso como biossensores.

1.1 Objetivo Geral

Obter híbridos de nanoferritas/ SiO_2 /quitosana para uso em biossensores.

1.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar nanoferritas dos sistemas: $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 por reação de combustão com produção em bateladas de 20g e verificar sua reprodutibilidade.
- Silanizar as nanoferritas com o agente silano 3-aminopropiltrimetoxissilano $[\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OCH}_3)_3]$ (APTS) e posteriormente funcionalizá-las com o biopolímero quitosana.
- Caracterizar as amostras por difração de raios X (DRX), espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia por fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDX) e por análise termogravimétrica (TGA).
- Caracterizar morfologicamente por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e por microscopia eletrônica de transmissão (MET).

- Caracterizar magneticamente as ferritas por magnetometria de gradiente alternado (AGM) e testes *in vitro* de sedimentação e separação aplicando um campo magnético externo.
- Avaliar *in vitro* a citotoxicidade das nanopartículas magnéticas visando seu uso como biossensores para tratamento e/ou diagnostico clínico.
- Realizar testes preliminares de imobilização de glicose oxidase (GOX).

2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1 Nanobiotecnologia

A nanotecnologia compreende a ciência de materiais para o domínio de partículas e interfaces com dimensões extremamente pequenas. Estas apresentam uma grande área superficial (área de contato) e, frequentemente, exibem propriedades mecânicas, óticas, magnéticas ou químicas distintas de partículas e superfícies macroscópicas.

Estima-se que de 2010 a 2015, o mercado mundial para materiais, produtos e processos industriais baseados em nanotecnologia será de um trilhão de dólares (NATIONAL NANOTECHNOLOGY, 2004).

O termo nanobiotecnologia refere-se à interface entre a nanotecnologia com a biologia. Pode significar também qualquer aplicação da nanotecnologia em pesquisa biológica, descoberta de fármacos e sua comercialização, ferramentas de diagnóstico, remédios ou novos biomateriais (PAULL *et al.*, 2003). A nanotecnologia é um domínio interdisciplinar onde convergem a física, a química, a ciência de materiais e a biologia sendo também uma tecnologia de fabrico, *design* e aplicação de nanomateriais e nanoestruturas (WOOD, 2006).

A nanotecnologia nas últimas décadas vem atraindo cada vez mais a atenção dos pesquisadores devido às inúmeras aplicações. Dentre os possíveis campos de aplicação, pode-se destacar a medicina e a biomedicina. A associação da nanotecnologia com a medicina fez surgir um novo campo de pesquisa, nanomedicina (FIGUEIREDO, 2013) e tem demonstrado um progresso permanente, onde nanopartículas inorgânicas têm sido usadas em uma variedade de aplicações.

A utilização de nanomateriais na medicina faz com que as instrumentações e metodologias tradicionais de análise sejam melhoradas a cada nova descoberta (KRANZ *et al.*, 2011). Por isso, a utilização de técnicas de diagnóstico baseadas em nanopartículas oferece uma alta sensibilidade, como no caso do diagnóstico de câncer em estágios iniciais (BLANCO *et al.*, 2011; VENDITTO *et al.*, 2013). As nanopartículas inorgânicas são a classe de nanomateriais aplicada à biomedicina e nanomedicina mais conhecida e estudada, pelas potencialidades que apresentam.

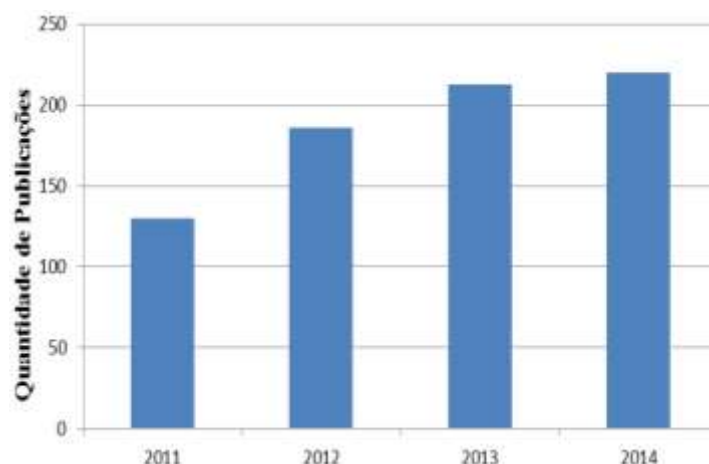
2.2 Nanopartículas Magnéticas

As Nanopartículas Magnéticas (NPMs) vêm atraindo cada vez mais o interesse dos pesquisadores devido a suas propriedades físicas e químicas. Seu tamanho nanométrico, a contribuição da superfície e a razão área superficial/volume das nanopartículas modificam fortemente suas propriedades elétricas e magnéticas, as quais determinam as aplicações nas mais diversas áreas, tais como pigmentos, aditivos para lubrificantes, sensores, receptores magnéticos, catálise, absorvedores de radiação eletromagnética, na biologia e biomedicina.

O estudo e aplicação de NPMs utilizadas na nanobiotecnologia é um campo relativamente novo, porém vem crescendo significativamente. Assim, para melhor avaliação desses estudos foi realizado uma pesquisa de publicações a partir do ano 2011 até novembro de 2014 na plataforma *online* Science Direct utilizando como termos “*magnetic nanoparticles*” e “*nanobiotechnology*”.

A distribuição dessas publicações entre os anos de 2011, 2012, 2013 e 2014 baseado nos dados obtidos até novembro do ano de 2014 encontra-se na Figura 1, podendo assim atestar o crescimento do número de estudos nessa área.

Figura 1 - Histograma de publicações das NPMs em nanobiotecnologia entre período de 2011 a novembro de 2014.



Pode-se observar que ao passar dos anos o número de publicações sobre as NPMs aplicadas na nanobiotecnologia vem aumentando cada vez

mais com projeção para o final de 2014 com maior número de publicação quando comparado aos anos anteriores.

Dentre as publicações, variados tópicos são abordados sobre as NPMs aplicadas na nanobiotecnologia tais como: carreadores de fármacos, agentes de contraste, separação de DNA e células, hipertermia, biossensores, e engenharia de tecidos, por exemplo.

Devido a grande importância do uso das NPMs em aplicações nanobiotecnológicas será reportado alguns artigos relevante neste tema de atuação.

Viswanathan (2011), sintetizou e caracterizou NPMs híbridas com TEOS e PVP em que os resultados comprovaram que as aplicações foram promissoras na marcação celular, imobilização de enzimas, terapias contra o câncer, separação celular e agentes de contraste.

Key *et al.*, (2012), avaliaram *in vivo* a aplicabilidade das nanopartículas recobertas com glicol e quitosana como agentes de contraste e observaram que a utilização das nanopartículas para tal aplicação foi totalmente viável e sua utilização promoveu a detecção precoce do câncer até em locais mais profundos do corpo humano.

Marcua *et al.*, (2013), caracterizaram NPMs visando melhorar seu potencial de liberação controlada de fármacos no tratamento do câncer de mama com o fármaco violamicina B1 (VB1). Observaram que as nanopartículas, testadas *in vitro*, apresentaram uma boa internalização no citoplasma de células cancerígenas e a atividade anticâncer do VB1 puro não foi modificada pela adição das nanopartículas.

Saraswathy *et al.*, (2014), sintetizaram e caracterizaram nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro estabilizado com dextran para ressonância magnética *in vivo* da fibrose hepática. Observaram que as partículas demonstraram elevado grau de compatibilidade com o sangue e menos citotoxicidade em células do fígado, confirmando a sua adequabilidade ser utilizado como agente de contraste em MRI, além disto, melhorou significativamente a diferença de contraste entre o tecido fibrótico e o resto do parênquima hepático.

2.3 Aplicações Biomédicas das NPMs

De maneira geral, as aplicações biomédicas das NPMs compreendem as que envolvem sua administração dentro do organismo (*in vivo*) e as externas ao organismo (*in vitro*). As aplicações *in vivo* são classificadas em terapêuticas, como hipertermia e liberação de drogas, além das diagnósticas como imagens de ressonância magnética nuclear. Enquanto as aplicações *in vitro* compreendem essencialmente as diagnósticas, como a biosseparação (separação/seleção celular) (FARAJI *et al.*, 2010).

Embora alguns metais puros possuam valor de magnetização de saturação adequada para aplicações biomédicas, estes são altamente tóxicos, sensíveis à oxidação, apresentam alta densidade e processamento complexo para obtenção de nanopartículas. Assim, tais NPs não são relevantes para aplicações biomédicas.

Contrastando com os metais, os materiais a base de óxidos de ferro, como exemplo, os ferropinólios contendo além de íons de Fe, íons como de Co e Ni, são óxidos menos sensíveis à oxidação, estáveis termicamente e quimicamente, dependendo do processamento são não tóxicos e, por conseguinte, apresentam resposta magnética estável e comparável aos metais puros. O uso de NPMs para tratamento e diagnóstico vem crescendo nos últimos anos.

Estas características possibilitam a estes óxidos a base de ferro facilidade relativa para funcionalizar – formar pontes de conjugação com outras moléculas, sendo assim, candidatos promissores para aplicações biomédicas (SHARIFI *et al.*, 2012).

2.3.1 Ferrofluidos

Uma parte das aplicações das NPMs consiste em empregá-las na forma de suspensão coloidal: são os chamados fluidos, ou líquidos magnéticos, os quais são atraídos por um campo magnético gerado por ímãs (KNOBEL e GOYA, 2004), ou simplesmente podem ser definidos como um fluido magnético, ou ferrofluido, formado por “pequenas” (de cerca de 10 nm) partículas magnéticas suspensas em um líquido (HOLM e WEIS, 2005).

Os fluidos magnéticos podem ser aplicados na contenção de derrames de óleo no mar como barreiras magnéticas, ou selando vazamentos de rachaduras em tanques de materiais potencialmente perigosos, na separação de diversos tipos de material (lixo e óleo), no posicionamento de órgãos durante cirurgia abdominal (KNOBEL e GOYA, 2004), como agente de rastreamento de células-tronco e monitoramento de transplante (FIGUEROLA *et al.*, 2010), também podem ser aplicados em transporte de fármacos, destruição de células cancerígenas e ensaios imunológicos (SHINDE *et al.*, 2012).

2.3.2 Contraste para Imagem por Ressonância Magnética

A ressonância magnética (IRM) é uma técnica não invasiva que envolve a alteração do alinhamento dos *spins* nucleares com um forte campo magnético por um pulso de rádio frequência e a medição do tempo de realinhamento dos núcleos ao campo magnético após o término do pulso (HORNACK, 2010). A IRM tornou-se uma técnica valiosa na detecção do câncer devido ao seu contraste de tecidos moles de alta resolução espacial e profundidade de penetração (MCCARTHY *et al.*, 2010).

O aperfeiçoamento dos contrastes utilizados em imagens de ressonância magnética (IRM) tornou-se uma técnica essencial para a imagem dos tecidos do corpo humano. A tecnologia IRM é baseada nos princípios da ressonância magnética nuclear (RMN) (CHAUGHULE, *et al.*, 2012), sendo resultado da diferença na intensidade do sinal que cada tecido produz em resposta ao pulso da radiofrequência (PANKHURST *et al.*, 2003; TARJAT *et al.*, 2003).

Primeiramente, um campo magnético forte é usado para polarizar parcialmente os momentos dos prótons. Um pulso de radio frequência (RF) é então aplicado para alterar o estado fundamental dos prótons e durante esse pulso, alguns dos fótons RF são absorvidos pelos prótons causando o “*flip*” (estado de energia mais alta) para o campo magnético. No final do pulso, os prótons relaxam voltando para um estado de energia mais baixa produzindo pequena quantidade de radiação eletromagnética e seu sinal é então registrado na bobina e convertido numa imagem. Os fatores que governam a técnica de

IRM são basicamente: a densidade do próton e o tempo de relaxação magnética (KNOBEL e GOYA, 2004; HEINTZ, 2004).

Para melhorar a diferenciação entre os tecidos, são utilizados agentes de contraste que diminuem os parâmetros de relaxação da água. Usualmente, metais pesados paramagnéticos tais como gadolínio (Gd) e manganês (Mn) são utilizados para tal aplicação, especialmente o Gd, uma vez que ele apresenta 7 elétrons desemparelhados e tempo de relaxação eletrônico longo.

Para sanar ou minimizar os inconvenientes do uso de contrastes com metais pesados, as nanopartículas superparamagnéticas de óxido de ferro, como exemplo a magnetita, são mais eficientes devidos principalmente a sua não toxicidade, dependendo do processamento, alta biocompatibilidade e seu elevado poder de contraste. Além do mais, estas nanopartículas podem aumentar a capacidade de contraste em exames de IRM.

Algum nível de toxicidade nas NPMs, pode ser sanado pela modificação química da superfície tornando-as não tóxicas, injetáveis, compatíveis com o corpo humano, capazes de se concentrar em um alto nível no tecido ou órgão de destino, e também a sua natureza fortemente magnética, tornando-as excelentes agentes de contraste (POOJA, 2006). Além disso, outro ponto de extrema importância é sua capacidade de integração fisiológica. O ferro e seus óxidos são metabolizados e estocados dentro das células na forma de ferritina e incorporados à hemoglobina (SAKAMOTO, 2010).

As nanopartículas de óxido de ferro superparamagnéticas, são atualmente mais usadas e têm provado ser altamente úteis em agentes de contraste de ressonância como, por exemplo, Feridex I.V, introduzido no mercado por *Advanced Magnetics Inc.* para mapear fígado ou distúrbio vesicular (DALT *et al.*, 2011).

2.3.3 Hipertermia Magnética

O tratamento de hipertermia consiste em expor o tumor a uma temperatura elevada para danificar as células cancerígenas ou para torná-las mais sensíveis aos efeitos da radiação ou de determinados fármacos anti-câncer. Em particular, a hipertermia magnética, ou magneto hipertermia, está baseada na propriedade de geração de calor das NPMs quando submetidas a

um campo magnético alternado e é considerado uma técnica promissora para tratamento de hipertermia *in vivo* (ZHAO, *et al.* 2012).

Uma vez detectada a presença de células tumorais por sua associação com as partículas magnéticas (minúsculos ímãs disfarçados de glóbulos vermelhos para enganar o sistema imunológico), pode-se fazer com que estas partículas comecem a vibrar pela ação de um campo magnético externo ao organismo. Essa vibração das partículas magnéticas dissipará o calor nas células tumorais associadas, provocando sua lise e morte, uma vez que estas são menos resistentes a aumentos bruscos de temperatura do que as células saudáveis (FARAJI *et al.*, 2010).

Como o tamanho das partículas magnéticas são inferiores a 50 nm, elas passarão através dos capilares e chegarão praticamente a qualquer órgão interno, fixando-se naqueles comprometidos por células tumorais. Uma vez fixos, a simples aplicação de um campo magnético externo oscilante (de modo análogo ao que é feito na técnica de ressonância magnética) elevará a temperatura das células malignas aderidas ao material magnético, acima do ponto inicial (42 - 46 °C) por cerca de 30 min, matando-as, mas deixando o restante do tecido normal intacto (KNOBEL e GOYA, 2004; LACAVA e MORAIS, 2004).

Um pré-requisito importante para a utilização terapêutica da magneto-hipertermia é que as nanopartículas devem apresentar baixos níveis de toxicidade, assim como um elevado momento de saturação que permita minimizar as doses requeridas (CASTRO *et al.*, 2010).

2.3.4 Carreador de Fármacos

O carregamento de fármacos por sistemas nanoparticulados é considerado uma técnica valiosa para otimizar a liberação controlada de fármacos. A miniaturização de um sistema carreador de fármacos até a escala nanométrica permite boa estabilidade, absorção e transferência quantitativa, permitindo assim, a atividade farmacodinâmica. Além disto, podem ser evitados os efeitos colaterais e reações por corpo estranho, simultaneamente à obtenção de tolerância local e sistêmica (RIBEIRO, 2008).

Esse tipo de sistema terapêutico se dá por administração de fármacos via

carreadores nanoparticulados. Um nanocarreador de fármacos deve ser capaz de carregar boa quantidade de fármaco e formar uma solução estável em meio aquoso. Devem também ser biodegradáveis e/ou biocompatíveis. Os fármacos geralmente são encapsulados, conjugados ou adsorvidos na superfície da nanopartícula e liberadas pela ação do calor, pH ou outros modos de radiação eletromagnética (CHANDRA *et al.*, 2011).

Os sistemas de liberação oferecem inúmeras vantagens quando comparados a outros de dosagem convencional, como por exemplo maior eficácia terapêutica, diminuição significativa da toxicidade e maior tempo de permanência na circulação, natureza e composição dos veículos variada, administração sem reações inflamatórias locais e com menor número de doses e direcionamento a alvos específicos, sem imobilização significativa das espécies bioativas (BEDÊ, 2010).

A utilização destes sistemas em liberação controlada de fármacos envolve um vasto campo de estudos e tem reunido muitos esforços na área de nanopartículas. Estes esforços estão representados por estratégias para a veiculação de ingredientes ativos, os quais incluem aplicações importantes da ciência de polímeros, de soluções de surfactantes e o preparo de espécies coloidais, administração de vacinas de DNA, além da utilização de técnicas transdérmicas (DURAN *et al.*, 2008).

2.4 Nanoferritas

As ferritas são definidas como a classe mais abundante das cerâmicas magnéticas, caracterizadas por serem óxidos, contendo o Fe_2O_3 como principal componente, exibindo também magnetização espontânea na ausência de campo magnético aplicado. Quando obtidas com tamanho de partícula em escala nanométrica (menores que 100 nm) são chamadas de nanoferritas.

Desde os primeiros produtos comerciais de ferrita o enfoque principal deste material tem sido para a fabricação de componentes confiáveis e cada vez menores no tamanho do produto. Devido às inúmeras descobertas ao longo dos anos, as ferritas alcançaram grande importância industrial que vai desde a enorme demanda pela fabricação de dispositivos eletro-eletrônicos do tipo magnéticos moles (*softs*) e duros (*hards*), até aplicações como carreadores

de fármacos (LIU *et al.*, 2013), catalisadores (DANTAS, 2012), pigmentos (COSTA, 2002; LIMA, 2007), e absorvedores de radiação eletromagnética (SANTOS, 2011; SONG *et al.*, 2014).

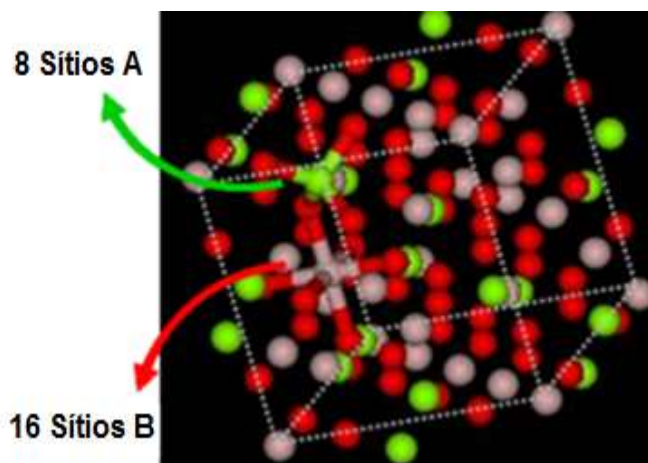
Dependendo da composição química e da distribuição cristalográfica, as ferritas são classificadas em três tipos: granadas, hexaferritas e espinélio (CAHN *et al.*, 1993). Dentre essas, as do tipo espinélio são as mais utilizadas, devido à sua grande mobilidade catiônica, que pode oferecer diferentes propriedades eletromagnéticas para a mesma estequiometria (HENDERSON *et al.*, 2007).

Por serem materiais cuja origem do magnetismo ocorre por consequência da distribuição dos cátions na rede cristalina, são definidos como materiais ferrimagnéticos de alta resistividade, derivados na sua grande maioria de óxidos de ferro como: a hematita ($\text{Fe}_2^{3+}\text{O}_3^{2-}$) e a magnetita ($\text{Fe}^{2+}\text{Fe}^{3+}\text{O}_4^{-2}$), os quais constituem em torno de 70% sua composição. Os 30% restantes podem ser constituídos de óxidos de outros metais de transição interna e/ou externa divalente e trivalente (RANE, 1999; SANTOS, 2011).

A origem do magnetismo nas ferritas se deve à presença de elétrons 3d desemparelhados e distribuídos em números não equivalentes nos sítios octaédricos e tetraédricos. As características dos materiais ferrimagnéticos se assemelham as dos ferromagnéticos, sendo a magnetização espontânea resultante da diferença dos momentos magnéticos entre os sítios tetraédricos A e os octaédricos B (BUENO, 2003).

Na Figura 2 se encontra a estrutura da ferrita espinélio, com as posições octaédricas e tetraédricas. Esses materiais cerâmicos ferrimagnéticos também são conhecidos como materiais magnéticos moles (*soft*) ou de alta permeabilidade, e são utilizados para criar um alto fluxo magnético a partir de uma corrente elétrica, ou então para induzir uma grande indução magnética devido a um campo externo variável (REZENDE, 1996). Com exceção tem-se a ferrita de CoFe_2O_4 que possui estrutura espinélio inverso e é uma ferrita de característica de um magneto duro (AMIRI e SHOKROLLAHI, 2013; SANTOS *et al.*, 2014).

Figura 2 - Representação esquemática dos interstícios tetraédricos (sítios A) e interstícios octaédricos (sítios B) na estrutura espinélio.



Fonte: SILVA, 2011.

Para indicar a distribuição de cátions em relação aos sítios tetraédricos e octaédricos, adota-se uma convenção apresentada na forma $[M^{II}]\{M_2^{III}\}O_4$, em que $[]$ representa sítios tetraédricos, $\{ \}$ representa sítios octaédricos e M representa o íon metálico bivalente no sítio tetraédrico e íon metálico trivalente no sítio octaédrico (FAIRWEATHER *et al.*, 1952).

Dependo da estrutura iônica dos cátions pode-se classificar a estrutura como sendo espinélio normal- $A(B)_2O_4$ ou $(A^{2+}) [B^{3+}B^{3+}]O_4$ e espinélio inverso - $B(AB)O_4$ ou $(B^{3+}) [A^{2+}B^{3+}]O_4$ (CULLITY, 1972). Na Tabela 1 encontra-se apresentada a distribuição dos cátions nos sítios das estruturas espinélio normal e inversa.

Tabela 1 - Distribuição dos cátions nos sítios das estruturas espinélio normal e inversa.

Tipo de sítio	Número disponível	Número ocupado	Espinélio normal	Espinélio inverso
Tetraédrico (A)	64	8	$8M^{2+}$	$8Fe^{3+}$
Octaédrico (B)	32	16	$16Fe^{3+}$	$8Fe^{3+}$ e $8M^{2+}$

Fonte: CULLITY, 1972.

Muitos espinélios de ocorrência natural têm distribuição de cátions intermediária entre os tipos normal e invertida. A distribuição iônica pode ocorrer com alguma inversão δ , nas ferritas com estrutura do espinélio, $[M^{II}]_{1-\delta}$.

$\delta, M^{II}_{\delta}] \{M^{II}_{\delta} M^{III}_{2-\delta}\}O_4$, onde δ é o grau de inversão. Para o espinélio normal, $\delta = 0$ e para espinélio invertido $\delta = 1$ (CULLITY, 1972). Quando as ferritas contêm dois íons divalentes diferentes podem ser chamadas de estrutura de espinélio mista, por exemplo, $(Ni,Zn)Fe_2O_4$ (REZENDE, 1996).

A distribuição dos íons entre os dois tipos de sítios (octaédricos e tetraédricos) é determinada por um balanço de energia na rede cristalina, sendo que em altas temperaturas esta distribuição é aleatória. Porém, alguns cátions apresentam reconhecidamente certa preferência entre os sítios cristalográficos na temperatura ambiente (BONGERS *et al.*, 1968). A ocupação original dos sítios normal e inverso é baseada na valência iônica. Outros fatores como o tamanho do cátion e campo cristalino são de fundamental importância para a seleção dos sítios (ROBERT, 1942).

As ferritas que são facilmente magnetizadas e desmagnetizadas são chamadas de ferritas do tipo mole, e as ferritas que têm magnetização permanente e não são facilmente desmagnetizadas são chamadas ferritas do tipo dura (ímã permanente). Uma das propriedades que é utilizada para separar esses dois tipos de ferritas é a coercividade, ou seja, o campo necessário para levar a magnetização do material à zero. Embora não exista uma linha divisória definida de maneira clara, assume-se que materiais ferromagnéticos ou ferrimagnéticos que possuem uma coercividade alta sejam duros, e aqueles que possuem coercividade baixa sejam classificados de moles. Em geral, um material com uma coercividade maior que 104 A/m (1256,64 Oe) é considerado duro, e outro que tenha coercividade menor que 500 A/m (6,28 Oe) é considerado mole (SINNECKER, 2000).

Pode-se citar como material magnético mole os óxidos magnéticos macios (ferritas, magnetita e maguemita) (CRUZ, 2013) e como material magnético duro a ferrita de cobalto ($CoFe_2O_4$) que é conhecida dentre as ferritas com estrutura espinélio cúbica, como a única a ser classificada como material duro magneticamente (YU *et al.*, 2002). As hexaferritas de bário e estrôncio também são exemplos de ferritas duras (PINHO, 2009).

Nanoferritas são boas candidatas para fins biomédicos uma vez que apresentam um elevado momento magnético, são quimicamente estáveis e suas superfícies são reativas para anexar moléculas biológicas. Além disso, a presença do íon metálico divalente (usualmente um metal) pode melhorar a

determinação da biodistribuição *in vivo* de nanopartículas em sondas de sangue (SHARIFI et al, 2012).

Atualmente, variados sistemas de óxidos tem sido reportado em aplicações biológicas. A Tabela 2 apresenta uma lista de diferentes tipos de nanoferritas que estão atualmente em desenvolvimento para esta aplicação.

Tabela 2 - Diferentes sistemas de óxidos reportados em aplicações biológicas

Nanopartículas Magnéticas	Referência
Fe_3O_4	Suto <i>et al.</i> , 2009; Novotna <i>et al.</i> , 2012; Zhao <i>et al.</i> , 2009
$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	Suto <i>et al.</i> , 2009; Novotna <i>et al.</i> , 2012.
NPs de Fe dopada com Au	Wijaya <i>et al.</i> , 2007
Ferrita MnZn	Gubbala, <i>et al.</i> , 2004; Cai, <i>et al.</i> , 2003
$\gamma\text{-Mn}_x\text{Fe}_{2-x}\text{O}_3$	Prasad <i>et al.</i> , 2007
Fe com MgO	Chalkidou, et al, 2011
Fe_3O_4 com Si	Gonzalez-Fernandez <i>et al.</i> , 2009
Fe com Fe_3O_4	Sivasai <i>et al.</i> , 2010
$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Fe}/\text{SiO}_2$	Hu <i>et al.</i> , 2008a; Hu <i>et al.</i> , 2008b
Fe com SiO_2	Liu <i>et al.</i> , 2008
CoFe_2O_4	Wu <i>et al.</i> , 2010; Yardımcı <i>et al.</i> , 2012.
$\text{Fe}(1-x)\text{Mn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$	Bhattacharya, <i>et al.</i> , 2011
MFe_2O_4 (M= Co, Mn, Ni)	Mohapatra <i>et al.</i> , 2011
NiFe_2O_4	Phadatare <i>et al.</i> , 2012
CoNiFe_2O	Chen <i>et al.</i> , 2012
Ferrita NiZn	Jiang et al, 2011

Dos vários sistemas de ferritas relatados na Tabela 2, os sistemas da ferrita mista $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e da ferrita simples CoFe_2O_4 são uma das mais promissoras para uso como materiais híbridos em aplicações na biomedicina como em diagnósticos clínicos.

As ferritas Ni-Zn apresentam excelentes propriedades, tais como alta resistividade elétrica ($10^5\text{-}10^{10} \Omega\cdot\text{cm}$), permeabilidade magnética relativa, 10-1000 (GOLDMAN, 1991), baixa coercitividade magnética, 3Oe, (SEDLÁI *et al.*, 2000), baixas perdas por histerese e corrente parasita (38×10^{-4}) na frequência

de 10kHz (ZAHl *et al.*, 2007), dureza mecânica, estabilidade química, e alta resistência à corrosão (TSAY *et al.*, 2000). Estas propriedades são dependentes da frequência de operação, do método e das condições de processamento utilizadas assim como da composição intrínseca do material além da distribuição dos cátions na rede no espinélio.

Ferritas mistas Ni-Zn tem sido estudada em algumas aplicações como, por exemplo, em processos de separação de DNA (NAM *et al.*, 2009), bioseparação em processos biológicos (OSTER *et al.*, 2001), hipertemia (LEE *et al.*, 2012), ressonância magnética (SHEN *et al.*, 2010).

A ferrita CoFe_2O_4 tem alta coercividade (5400 Oe), magnetização de saturação moderada (cerca de $4 \cdot 10^5 \text{ J/m}^3$), excelente estabilidade química e elevada dureza mecânica, necessária para uso como mídia de gravação de alta densidade (WU *et al.*, 2010). É um material magnético duro (AMIRI e SHOKROLLAHI, 2013), apresenta ainda estabilidade química, dureza mecânica, resistência ao desgaste, facilidade de síntese e bom isolamento elétrico.

As ferritas de cobalto têm sido utilizadas em aplicações como catalisador, ferrofluidos, tratamento por hipertermia, ressonância magnética, e biosensor. Tem mostrado serem adequadas para o isolamento e purificação de DNA genômico, separação de DNA (HORK *et al.*, 2007; PRODELALOVA *et al.*, 2004) e, especialmente, em tratamento hipertermia (TOMITAKA *et al.*, 2011). Nanopartículas de ferrita de cobalto são uma das NPs magnéticas mais amplamente desenvolvidos para fins médicos (MOHAPATRA *et al.*, 2011).

Segundo Bueno *et al.* (1997), a célula unitária da ferrita Ni-Zn mista do espinélio inverso pode ser representada pela fórmula $(\text{Zn}_x\text{Fe}_{1-x})[\text{Ni}_{1-x}\text{Fe}_{1+x}]\text{O}_4$. Os íons de oxigênio formam um sistema de empacotamento fechado de face centrada. Os íons metálicos (Fe^{3+}) na rede espinélio podem ocupar as duas posições de simetria diferentes (sítios tetraédricos e octaédricos). Se os íons de Fe^{3+} estiverem distribuídos igualmente em ambos os sítios, seus momentos magnéticos se cancelam e a magnetização total, portanto, deve ser resultante dos momentos magnéticos dos íons Ni^{2+} (magnético), os quais se encontram nos sítios octaédricos da rede espinélio. O momento magnético total é resultante apenas da fase inversa.

Por outro lado, os íons de Fe^{3+} podem não estar distribuídos igualmente nos sítios tetraédricos e octaédricos, o que pode ocorrer devido o aumento do momento magnético molecular pela adição de ferrita com estrutura espinélio normal, como por exemplo, ZnFe_2O_4 . Neste caso, os íons de Zn^{2+} vão ocupar o sítio tetraédrico e forçar um número igual de íons Fe^{3+} a saírem do sítio tetraédrico para o octaédrico, o que provoca um aumento adicional de magnetização nos sítios octaédricos. Então, o momento magnético é resultante da presença das fases normal e inversa. Dessa forma, é possível produzir um grande número de ferritas Ni-Zn com magnetização intrínseca, pela substituição adequada dos íons metálicos (COSTA, 2003), o que torna este material tão interessante científica e tecnologicamente, permitindo portanto, uma grande variedade de suas propriedades e consequentemente de suas aplicações.

Segundo Amiri e Shokrollahi, 2013, a célula unitária cúbica da ferrita CoFe_2O_4 do espinélio inverso pode ser representada pela fórmula $(\text{Co}_x\text{Fe}_{1-x})[\text{Co}_{1-x}\text{Fe}_{1+x}]\text{O}_4$. Do ponto de vista da cristalografia, na ferrita de cobalto os íons Fe^{3+} estão locados nos sítios A, enquanto os íons Co^{2+} e Fe^{3+} se encontram nos sítios B, estrutura esta referida como inversa. Na estrutura de espinélio invertido CoFe_2O_4 , o ordenamento anti-paralelo dos spins das duas sub-redes resulta em cancelamento dos momentos magnéticos do Fe^{3+} , de modo que o ferrimagnetismo da estrutura é atribuído apenas aos íons Co^{2+} (LEONEL, 2010).

Variados métodos têm sido avaliados para obtenção de ferritas em escala laboratorial. O método de síntese de ferritas por reação de combustão tem permitido a obtenção de ferritas homogêneas puras e nanocristalinas além de ser um método simples, de baixo custo e rápido, com boa reprodutibilidade dos produtos e por ser promissor para a fabricação de diferentes sistemas cerâmicos em nanoescala (SANTOS *et al.*, 2014).

2.5 Materiais Híbridos

Os materiais híbridos podem ser amplamente definidos como materiais sintéticos contendo uma mistura íntima entre os componentes orgânicos e inorgânicos. Esta mistura produz uma sinergia que fornece a esses materiais,

com características únicas, uma série de propriedades melhoradas em relação aos precedentes individuais, através da seleção dos componentes orgânicos e inorgânicos bem como da escolha apropriada das condições para a sua articulação e transformação (AZEVEDO *et al.*, 2013).

As propriedades otimizadas que merecem destaque são: alta flexibilidade, facilidade no processamento, resistência à alta temperatura, resistência à corrosão e bom desempenho mecânico, sendo amplamente utilizada nas áreas óptica, eletrônica, sensores de separação, catálise química e biológica (MAO *et al.*, 2012).

Os híbridos oferecem a oportunidade de combinar as propriedades desejáveis do polímero orgânico, como elasticidade e flexibilidade, com as propriedades dos sólidos inorgânicos, tais como rigidez, resistência química, estabilidade térmica e química (KURAYAMA *et al.*, 2010).

As mais recentes tecnologias requerem materiais com combinação de propriedades que, normalmente, não são encontradas nos materiais convencionais. Neste cenário, os materiais híbridos surgem como uma alternativa para a obtenção de novos materiais com características multifuncionais e potencialidade para aplicações nas mais diversas áreas (MITZI, 2001).

O desenvolvimento na área de materiais híbridos tem se acelerado desde a década de 1980, com destaque para a preparação de géis inorgânicos impregnados por polímeros orgânicos (AIROLDI e FARIAS, 2000). Além de representarem uma alternativa criativa para a pesquisa de novos materiais, estes materiais também permitem o desenvolvimento de aplicações industriais inovadoras, tais como: membranas inteligentes, dispositivos de separação e fotovoltaicos, células a combustíveis, marcadores biológicos (FURTADO, 2013), fotocatalisadores e aplicações ópticas (ZELAZOWSKA *et al.*, 2011; YAO e TONG, 2012), catalisadores (BORDOLOI *et al.*, 2008), sensores biológicos (ARAUJO, 2013), cosméticos, materiais para liberação controlada de moléculas ativas (SEKHON e KAMBOJ, 2010), compósitos (SHEN *et al.*, 2014) que combinam cerâmicas e polímeros, entre outros.

O maior desafio na síntese de combinações híbridas é manter ou acentuar as propriedades mais interessantes e diminuir ou eliminar as propriedades indesejadas de cada componente (GOMEZ-ROMERO, 2001). As

propriedades de um material híbrido não são apenas um somatório das contribuições individuais de seus constituintes. Este sinergismo também depende da natureza química dos segmentos orgânicos e inorgânicos, do tamanho e da morfologia dos correspondentes domínios (SILVÉRIO, 2009).

Para se utilizado nas mais variadas aplicações, sobretudo na indústria, medicina e odontologia é importante que se tenha uma conexão entre os diferentes materiais inorgânicos e orgânicos. No entanto, devido à diferença de natureza da ligação química nestes materiais, a interação na camada interfacial é muito fraca. Este problema pode ser resolvido com a introdução de agentes de acoplamento (LUNG e MATINLINNA, 2012). Os agentes de acoplamento são utilizados como agentes promotores, dispersantes, agentes de reticulação, e modificadores de superfície do tipo silanos que visa à otimização da adesão na interface (SHARMIN *et al.*, 2012).

2.6 Agentes Silanos

A fim de melhorar o desempenho das NPMs muitos materiais híbridos têm sido desenvolvidos usando um agente de acoplamento que contém o grupamento da sílica. Estes materiais organometálicos utilizados no revestimento das NPMs têm atraído grande interesse devido a sua excelente biocompatibilidade e facilidade de modificação de superfície ou de bioconjugação (SOUZA *et al.*, 2008; ICHIYANAGI *et al.*, 2007; ASLAM *et al.*, 2005; HAO *et al.*, 2010), o que o torna adequado para conjugação com proteínas e aplicações *in vivo* (LIU *et al.*, 2012). Além de ser um bom revestimento, previne a oxidação e a aglomeração das NPMs (LI *et al.* 2012).

Para aplicações de NPMs em nanobiomedicina as partículas devem ser funcionalizadas, apresentar tamanho e distribuição granulométrica controlada, além de se manterem estáveis em suspensão. É necessário também que elas possuam um elevado valor de magnetização de saturação e que sejam biocompatíveis (TAYLOR *et al.*, 2000). Para isso, NPMs em sua forma mais simples são compostas de um núcleo inorgânico magnético, geralmente uma ferrita como Fe_3O_4 e MFe_2O_4 ($\text{M} = \text{Ni}, \text{Co}, \text{Mn}$), a qual deve ser pré-revestido com uma substância que podem garantir a sua estabilidade,

biodegradabilidade e não toxicidade em meio fisiológico, além de manter a alta saturação magnética e ter uma superfície funcional (PON-ON *et al.*, 2011).

A adesão interfacial entre os materiais orgânicos e inorgânicos pode ser melhorada através da formação de ligações químicas e físicas que se formam através de agentes de acoplamento a exemplo de silanos organofuncionais, que apresentam propriedades tanto orgânicas quanto inorgânicas e podem reagir simultaneamente com polímeros e componentes minerais cerâmicos, resultando em um material com melhores propriedades de adesão e durabilidade (SHARMIN *et al.*, 2012).

Os agentes silanos, também conhecidos como silanos organofuncionais, pertence à classe de agentes de adesão mais utilizada no tratamento de superfícies de cargas inorgânicas, visando melhorar a interação destas com os compostos orgânicos (LUNG e MATINLINNA, 2012). Podem atuar como agentes de adesão ou como co-agentes de reticulação, fazendo com que a matriz orgânica ou inorgânica, tenha certa afinidade com biomoléculas, ou simplesmente quando é necessário promover uma adesão entre compostos orgânicos e inorgânicos (BENVENUTTI *et al.*, 2001). Os silanos têm sido largamente utilizados como modificadores de superfície (PON-ON *et al.*, 2011; LIU *et al.*, 2012).

A reação de silanização tem permitido o ancoramento de diferentes grupos funcionais em superfícies de sólidos inorgânicos, sendo uma rota efetiva para obtenção de materiais híbridos (JOSIK e JIN-HO, 2001). As diversas superfícies que podem ser utilizadas são: polímeros, como poliéster, poliamina e celulose, e os materiais inorgânicos como sílica, zeólito, vidro, argila, silicato, hidroxiapatita e uma variedade de óxidos metálicos (MCELWEE *et al.*, 2005; SILVA, 2006; FUCHS *et al.*, 2007).

Entre os tipos de agentes silanos mais utilizados e que tem se mostrado eficiente na funcionalização de nanopartículas temos o 3-aminopropil-trimetoxissilano, 3-cloropropil-trimetoxissilano, metacriloxipropiltrimetoxissilano, tetraetilortossilicato (SAHOO *et al.*, 2014; YANG *et al.*, 2012; KOOTI *et al.*, 2015).

Os agentes silanos apresentam uma fórmula geral $Y(CH_2)_nSi(OR)_3$, onde OR é um grupo sílcio-funcional (como $-OCH_3$ ou $-OC_2H_5$), enquanto que Y é um grupo organo-funcional (como $-CH=CH_2$, $-Cl$, $-NH_2$ ou $-N=C=O$). A presença de grupos hidroxilas ($-OH$) na superfície das partículas é

indispensável para promover a reação com agentes de acoplamento do tipo silano onde, os grupos $(OR)_3$ se hidrolisam formando grupos silanóis $(Si-OH)$ que reagem com materiais inorgânicos. Por outro lado, seu grupo R é capaz de reagir com os monômeros a serem polimerizados formando assim materiais híbridos orgânicos inorgânicos (DIAZ-BENITO *et al.* 2010).

Um agente silano quimicamente adsorvido sobre uma superfície inorgânica proporciona uma plataforma de reações químicas adicionais, através de uma amina ou outro grupo funcional oposto ao silano. Assim, macromoléculas, como proteínas, enzimas e DNA podem se fixar à esta plataforma, ligando-se ao grupo funcional (WANG e VAUGHN, 2008).

Sun *et al.*, (2010) relataram a síntese de nanocompósitos multifuncionais (Fe_3O_4 e pontos quânticos) utilizando o tetraetoxissilano (TEOS) como precursor para sintetizar os nanocompósitos de sílica. Observaram que o uso multifuncional da manipulação magnética e as imagens de fluorescência era simultaneamente possível devido a utilização do TEOS. Concluíram ainda que uso multifuncional dos nanocompósitos em estudo ajuda a melhorar a eficácia nos diagnóstico, reduzir os efeitos colaterais da utilização dos medicamentos além de apresentar potencial para outras aplicações biológicas em que propriedades magnéticas e ópticas são aliadas em carga, controle de armazenamento e liberação de medicamentos, orientando magneticamente e acompanhando a entrega opticamente.

Liu *et al.*, (2012) prepararam nanocompósitos $Ni_{0,5}Zn_{0,5}Fe_2O_4/SiO_2$ pelo processo citrato gel e investigaram o comportamento da adsorção de albumina de soro bovino (BSA) por espectroscopia UV à temperatura ambiente. Observaram que o nanocompósito $Ni_{0,5}Zn_{0,5}Fe_2O_4/SiO_2$ demonstrou uma capacidade de adsorção para BSA melhor quando comprado as nanopartículas $Ni_{0,5}Zn_{0,5}Fe_2O_4$ puras.

Kanimozhi e Perinbam (2013) prepararam nanopartículas superparamagnéticas de Fe_3O_4 (magnetita) utilizando o método de co-precipitação química e funcionalizaram a superfície da mesma com 3-aminopropiltriethoxissilano (APTES) visando à obtenção de nanopartículas magnéticas funcionalizadas. A lipase purificada a partir de *Pseudomonas fluorescens* (Lp1) foi imobilizada na magnetita funcionalizada usando glutaraldeído como agente acoplamento. Os resultados do estudo de

caracterização revelou a imobilização da lipase com sucesso na magnetita funcionalizada por meio de ligação cruzada (*cross linking*). A magnetização de saturação das nanopartículas magnéticas foi de 28,34 emu/g, enquanto que para a nanopartícula magnética funcionalizadas foi 17,07 emu/g. A lipase imobilizada teve maior atividade em 50°C e estabilidade térmica até 70°C. A magnetita funcionalizada exibiu reutilização excelente para 4 ciclos de imobilização e estabilidade de armazenamento de até 15 dias através da retenção de 75% de sua atividade inicial.

Sundar *et al.*, (2014) relataram a síntese de nanopartículas superparamagnéticas Fe₃O₄ sintetizadas por co-precipitação e revestidos com APTES em que através do grupo amino ativo em sua estrutura é capaz de combinar com fármaco anticâncer curcumina formando assim transportadores magnéticos de fármacos. Concluíram que as nanopartículas de óxido de ferro revestidas com APTES combinados com Curcumina são promissores veículos de fármacos magnéticos a ser utilizados magneticamente em sistemas de distribuição de drogas específicas e outras aplicações biomédicas.

2.7 Quitosana

As NPMs podem ser trabalhadas quimicamente através da modificação de sua superfície com moléculas específicas ou polímeros, o que amplia enormemente suas aplicações, principalmente na biomedicina.

Para atender a essas funções de revestimento, um grupo diversificado de polímeros têm sido investigadas, incluindo polietilenoglicol (PEG), dextran, ciclodextrina, polietilenoimina (PEI) (VEISEH *et al.*, 2009), poli(álcool vinílico) (PVAL), metilmetracrilato, hidroxipropilmetilcelulose, carboximetilcelulose, glutaraldeído e quitosana (BAÑULS *et al.*, 2010; XIA *et al.*, 2011; FURTADO, 2013). Dentre estas, a quitosana é um biopolímero promissor por apresentar sítios reativos adequados para modificações químicas ds superfície, o que permite a interação com biomoléculas, podendo resultar em aplicações biotecnológicas, biomédicas ou farmacêuticas (FURTADO, 2013).

A quitosana é um biopolímero policatiônico obtido pela desacetilação alcalina da quitina. Este biopolímero tem sido amplamente empregado para aplicações biomédicas, pois é considerado adequado como um material

funcional devido à sua alta biocompatibilidade, biodegradabilidade, antigenicidade e pela não-adsorção de proteínas (PETER *et al.*, 2010; AIDER, 2010). As propriedades físicas, químicas e mecânicas da quitosana a torna ideal para diversas aplicações, a saber: aplicações farmacêuticas e biomédicas em hemodiálise, pele artificial, curativos, e sistemas de entrega de fármacos (SAGNELLA e MAI-NGAM, 2005). As propriedades como a não toxicidade, propriedades antimicrobiana e hidratante, contribuem para sua aplicação na cicatrização de feridas (MADHUMATHI *et al.*, 2009; JAYAKUMAR *et al.*, 2011).

A quitosana apresenta características únicas e vantajosas responsáveis por sua ampla utilização, tais como: capacidade de formar filmes resistentes, flexíveis, de difícil rompimento, além de promover barreira efetiva ao oxigênio (REIS, 2010), conjugação biológica, biodegradabilidade, biocompatibilidade e não toxicidade (NIDHIN *et al.*, 2012).

A alta hidrofilicidade da quitosana, devido ao grande número de grupos hidroxila e grupos amina presentes na cadeia polimérica, permite sua utilização como biomaterial (MELO, 2010). Este biopolímero é promissor devido sua grande versatilidade, que consiste na facilidade de transformação em hidrogéis, esponjas, membranas, nanofibras e micro/nanopartículas (JAYAKUMAR *et al.*, 2011).

A versatilidade química da quitosana resulta principalmente da presença dos grupos amina em sua estrutura, os quais oferecem muitas possibilidades de modificações, como: N-acetilação, N-alquilação, N-carboxilação, N-sulfonação e formação de bases de *Schiff* com aldeídos e cetonas (GONSALVES *et al.*, 2011).

Devido às várias formas de transformação da quitosana e por esta ser um polieletrólito catiônico, que tem seus grupos amina protonados (NH^{3+}), a quitosana apresenta diversas aplicações na área de biomateriais. A presença dos grupos amina confere à quitosana a propriedade de conjugação, que é a capacidade de ligar-se a substâncias como: o colesterol, gorduras, íons metálicos, proteínas, células tumorais, entre inúmeras outras (OSÓRIO, 2007). Também promove sua ligação com as proteínas séricas que reconhecem receptores específicos que estão presentes em vários tipos de células cancerosas (BOCA *et al.*, 2011). Desse modo, a quitosana, é também um polímero de grande interesse em aplicações farmacêuticas, pois, pode ser

conjugada com entidades químicas diversas, mediante os grupos de aminas primárias (SLÜTTER *et al.*, 2010).

De acordo com Wang *et al.*, (2012) a preparação de filmes antibacterianos que possam ser aplicados a dispositivos médicos têm-se mostrado como um grande desafio que decorre principalmente devido a eficiência bactericida e infecções que se apresentam como as complicações mais frequentes da medicina moderna e na área de biomateriais. Neste sentido, filmes poliméricos híbridos formados a partir de materiais com propriedades vantajosas como a quitosana e as nanopartículas de metais, têm sido utilizados para atuar como agente antimicrobiano e antifúngico.

Grumezescu *et al.*, (2013) tiveram como objetivo obter a obtenção de um sistema nanoativo para melhorar a atividade antibiótica no controle da liberação de certos medicamentos. Eles obtiveram nanomateriais compósitos magnéticos, baseados no núcleo de magnetita sintetizada por coprecipitação e reticulada com quitosana. Os resultados obtidos neste estudo recomendam estes materiais para aplicações no domínio da prevenção e tratamento de doenças infecciosas, apresentando potencial significativo nas atividades antibióticas, tanto contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas oferecendo novas perspectivas para o desenvolvimento de uma estratégia eficiente na terapia antimicrobiana, reduzindo assim, a quantidade de antibióticos, mas mantendo a mesma atividade.

Shete *et al.*, (2014) estudaram o efeito de revestimento, através de um método de ultrassom, do biopolímero quitosana sobre o comportamento dos nanocristais de magnetita Fe_3O_4 preparadas por precipitação alcalina. Observaram que o mecanismo provável de revestimento foi devido a forte ligação de hidrogênio entre o grupo amina (NH_2) da quitosana com o oxigênio da Fe_3O_4 , comprovado através do espectro de FTIR. A estrutura do espinélio Fe_3O_4 após serem revestidos com quitosana foi mantida comprovada pelo DRX, as partículas apresentaram diâmetro de $21,8 \pm 5,3$ nm e $15,1 \pm 5,0$ nm para os sistemas Fe_3O_4 e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Quitosana}$, respectivamente. Os autores observaram ainda que o revestimento da quitosana na Fe_3O_4 não afetou a propriedade de magnetização cujos os valores de magnetização de saturação foram de 51,68 e 49,96 emu/g, à temperatura ambiente, para os sistemas Fe_3O_4 e $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Quitosana}$, respectivamente, enquanto que os valores de

coercividade e magnetização remanente implicaram em comportamento superparamagético. Observaram nos ensaios de viabilidade celular que as amostras apresentaram baixo efeito citotóxico em linhagens de células L929, mesmo após o período de 48 horas de incubação, comprovando assim sua adequação para aplicações *in vivo*. Concluíram que os nanocristais sintetizados pelo método de precipitação alcalina e revestidos com quitosana são adequados para aplicações em biosensores e entrega de fármacos específicos além de hipertemia.

3 METODOLOGIA

3.1 Materiais

Os materiais e reagentes utilizados nesta pesquisa foram:

Para a síntese das NPMs:

- Ureia - $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ - 98% - VETEC;
- Nitrato de ferro nonohidratado - $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ - 99% - VETEC;
- Nitrato de zinco hexahidratado - $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 99% - VETEC;
- Nitrato de níquel hexahidratado - $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 98% - VETEC;
- Nitrato de cobalto II trihidratado - $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ - 98% - VETEC;

Para o processo de silanização:

- NPMs sintetizadas;
- 3-aminopropiltrimetoxissilano – APTS - $[\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OCH}_3)_3]$ - 97% - SIGMA-ALDRICH;
- Tolueno – C_7H_8 – SIGMA-ALDRICH;
- Álcool etílico – $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ – SIGMA-ALDRICH;

Para o processo de funcionalização com quitosana:

- NPMs silanizadas;
- quitosana – Qs - $(\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_9)$ - 98% - ALDRICH;
- Ácido Acético Glacial (CH_3COOH) – SYNTH;
- Hidróxido de Sódio (NaOH) – SYNTH;

Para a preparação do PBS:

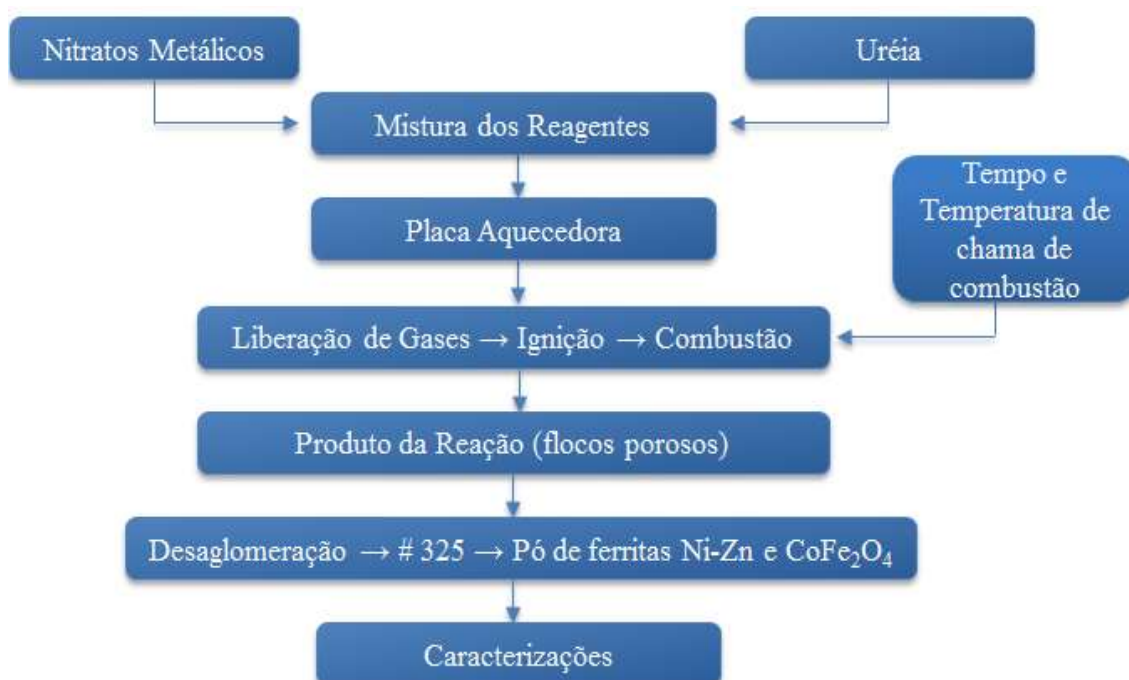
- Fosfato de sódio monobásico – $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ – VETEC;
- Fosfato de potássio dibásico anidro – K_2HPO_4 – VETEC;

3.2 Síntese Química das NPMs

As soluções contendo os reagentes oxidantes e fonte de cátions metálicos e a ureia (agente redutor) foram obtidas a partir da valência total dos reagentes oxidantes e redutores usando a teoria dos propelentes e explosivos propostos por Jain *et al.* (1981), de modo a favorecer a relação estequiométrica oxidante/combustível, $\Phi_e = 1$.

A mistura redox dos reagentes oxidantes e redutores preparados de acordo com a estequiometria pré-estabelecida foi obtida em um recipiente com capacidade de produção em bateladas de 20 g e submetidos ao aquecimento direto em um reator cônico com resistência elétrica (temperatura aproximada 600 °C) (COSTA e KIMINAMI, 2012) até atingir a auto-ignição (combustão). Em seguida o produto da reação (flocos porosos) foi desaglomerado em malha 325 (abertura ABNT 45 μm) e submetido às caracterizações. A Figura 3 ilustra o fluxograma utilizado para a síntese química das NPMs em estudo.

Figura 3 - Fluxograma da síntese química das NPMs em estudo.



As reações de síntese de combustão para cada sistema de NPMs foram realizadas em triplicata, sendo especificada por NZ₁, NZ₂ e NZ₃ para as NPMs de Ni_{0,5}Zn_{0,5}Fe₂O₄ e Co₁, Co₂ e Co₃ para as NPMs de CoFe₂O₄, alternando-se dias e horários, a fim de avaliar a reprodutibilidade da síntese. Para a média das reações os sistemas foram reportados como NZ e Co, para as NPMs de Ni_{0,5}Zn_{0,5}Fe₂O₄ e CoFe₂O₄, respectivamente

3.2.1 Temperatura e Tempo

A temperatura da reação de combustão foi medida por um pirômetro de infravermelho (Raytek, modelo RAYR3I $\pm 2^{\circ}\text{C}$). A temperatura de reação foi medida em um intervalo de tempo de 5 segundos entre cada medição de forma *on-line*, usando uma média de três reações. O tempo da reação de combustão foi medido por um cronômetro digital, marca Technos.

O início da medição da temperatura da reação foi efetuado após a dissolução total dos reagentes, e o final da medição da temperatura de reação foi obtida após atingir a temperatura máxima da chama de combustão. O pirômetro possui precisão para medir temperatura no intervalo de 250°C a 1700°C e o mesmo registra automaticamente a máxima temperatura alcançada durante a combustão.

O tempo de chama foi medido por 2 maneiras distintas: por um cronômetro digital, marca Technos e também graficamente utilizando-se o gráfico de temperatura em função do tempo de reação para cada sistema em estudo. Graficamente, o tempo de chama teve início quando a reação atingiu a temperatura de ignição da reação, tempo esse que antecede a temperatura máxima da reação, e vai até o momento em que a reação cessa a chama.

3.3 Silanização das NPMs

A modificação da superfície das NPMs em estudo foi realizada com o agente silano de acoplamento, APTS, $[\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{Si}(\text{OCH}_3)_3]$. Para isso foram colocados 5g do das NPMs previamente seca em estufa à 100°C com 5mL do reagente APTS misturados em 50mL de tolueno anidro $\text{C}_6\text{H}_5\text{C}(\text{O})\text{OH}$ em um balão de três bocas e fundo redondo de 500 mL. A mistura foi mantida sob refluxo a 100°C sob agitação por 72 horas.

Após a reação de silanização a solução foi transferida para tubos de ensaios e centrifugados em uma centrífuga FANEM modelo baby com velocidade 500 rpm durante 30 minutos a fim de promover a sedimentação das NPMs. Posteriormente, iniciou-se o processo de lavagem utilizando álcool etílico $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, repetido o processo por 8 vezes e, em seguida colocados

para secagem em estufa FANEM Modelo 315 a 150°C por 12 horas. A Figura 4 apresenta o esquema ilustrativo para a silanização das NPMs.

Figura 4 - Esquema ilustrativo da silanização das NPMs.



As NPMs após modificação da superfície com o agente silano foram designadas NZS e CoS, para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 , respectivamente.

3.4 Funcionalização das NPMs

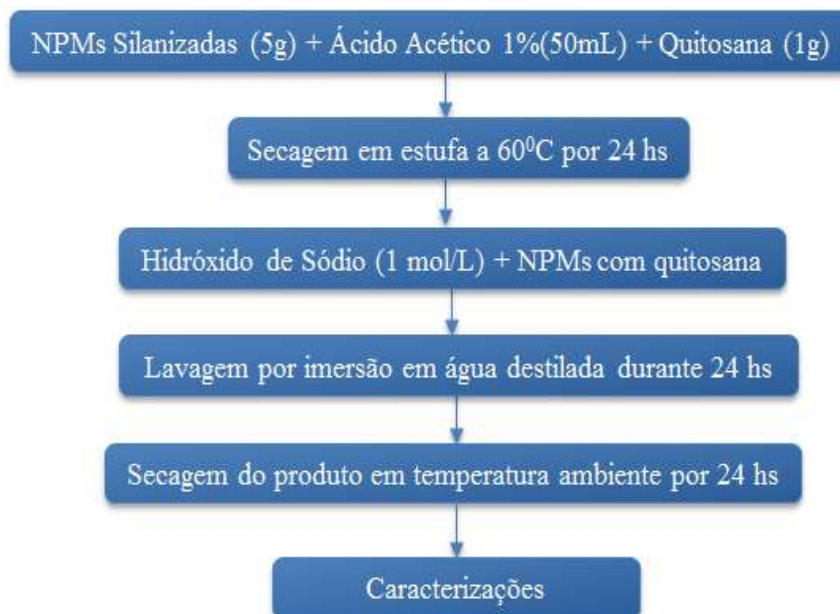
Para funcionalização das NPMs com quitosana procedeu-se da seguinte maneira: 5g das NPMs silanizadas foram pesadas e adicionadas em 50 mL de uma solução de ácido acético (1% v/v) e 1 g de quitosana, sob agitação magnética por um período de 2 horas.

A solução foi vertida em placas de Petri. As placas de Petri foram colocadas em estufa, em temperatura em torno de 60°C, por um período de 24 horas para evaporação completa do solvente, resultando num produto seco. Uma solução de hidróxido de sódio 1 mol/L foi adicionada ao produto, ainda dentro das placas de Petri, por um período de 2 horas, para completa remoção de resíduos do ácido.

Após a reação alcalina, o produto foi imerso em água destilada, aproximadamente (1 litro) para eliminação do excesso do hidróxido de sódio, por um período de 24 horas. Em seguida, o produto foi seco em temperatura

ambiente por 24 horas. A Figura 5 apresenta o esquema ilustrativo para a funcionalização das NPMs.

Figura 5 - Esquema ilustrativo da funcionalização das NPMs.



As NPMs após funcionalização com quitosana foram designadas NZQ e CoQ, para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 , respectivamente.

3.5 Técnicas de Caracterização

3.5.1 Difração de Raios X - DRX

A determinação das fases presentes, cristalinidade e o tamanho de cristalito das amostras em estudo foram determinados a partir dos dados de difração utilizando um difratômetro de raios X SHIMADZU (modelo XRD 6000, radiação Cu K).

O tamanho médio de cristalito foi calculado a partir da linha de alargamento de raios X (d_{311}) por meio da deconvolução da linha de difração secundária do cério policristalino (usado como padrão) utilizando-se a equação de Scherrer (AZÁROFF, 1964) (Equação 1).

$$D = \frac{0,9\lambda}{\beta \cos \theta_{\beta}} \quad (1)$$

onde: D = tamanho de cristalito,

λ = comprimento de onda dos raios X e

θ_β = representa o ângulo de Bragg.

A largura β é o alargamento da linha de difração, a mesma é determinada pela meia altura de sua máxima intensidade, usualmente medida em radianos e é determinada pela equação 2:

$$\beta = \frac{1}{2}(2\theta_1 - 2\theta_2) = \theta_1 - \theta_2 \quad (2)$$

como θ_1 e θ_2 são muito próximos de θ_B a seguinte aproximação pode ser feita:

$$\theta_1 + \theta_2 = \theta_\beta \quad (3)$$

Esse ensaio e os tratamentos dos dados foram realizados no Laboratório de Engenharia de Materiais da UFCG. Para cada amostra foram realizadas três ensaios de DRX, a partir dos quais foram obtidos os cálculos do tamanho de cristalito e cristalinidade médio e seus respectivos desvios padrões.

3.5.2 Espectrometria na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier - FTIR

Os espectros de FTIR foram obtidos usando um espectrômetro modelo 400 FT-IR/FT-NIR da marca Perkin Elmer, entre 4000 e 650 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 20 varreduras.

Os ensaios de FTIR foram realizados no Laboratório de Certificação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (Certbio) da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande (UAEMA/UFCG).

3.5.3 Análise Química por Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva - EDX

A análise semi-quantitativa dos óxidos e elementos presentes nas amostras foram determinados por espectroscopia de fluorescência de raios X por energia dispersiva, em um equipamento modelo EDX-720, da marca SHIMADZU. Esse ensaio foi realizado no Laboratório de Engenharia de Materiais da UFCG.

3.5.4 Análise Termogravimétrica - TG

A análise termogravimétrica das NPMs em estudo foram obtidas por meio de curvas termogravimétricas, obtidas em uma termobalança, modelo STA 6000 da marca Perkin Elmer, sob fluxo de N₂ de 20mL/min. com taxa de aquecimento de 20°C/min, na faixa de temperatura de 30 até 900°C. A Análise térmica foi realizada no Laboratório do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Recife.

3.5.5 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV

Os aspectos morfológicos das amostras resultantes foram analisados por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para a realização dessa análise, as amostras foram diretamente depositados sobre uma gota de tinta de prata em porta-amostra de alumínio, dispersos com ultra-som em acetona e depositados sobre o porta-amostra previamente polidos com alumina. O porta-amostra foi recoberto com uma película de ouro, que atuou como meio condutor.

As amostras foram analisadas em um microscópio eletrônico de varredura (MEV), marca Philips, modelo XL30 FEG do laboratório de Caracterização Estrutural (LCE) do Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São Carlos.

3.5.6 Microscopia Eletrônica de Transmissão – MET

O tamanho e a morfologia das partículas e/ou aglomerados das amostras também foram analisados por microscopia eletrônica de transmissão (MET). Para a análise foi utilizado um microscópio eletrônico de transmissão modelo EM420, marca Philips (voltagem de 120KV) do Laboratório de Caracterização Estrutural (LEC) do Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São Carlos.

3.5.7 Caracterização Magnética

As caracterizações magnéticas das amostras foram feitas por medidas da curva de histerese de magnetização (M) em função do campo aplicado (H) na temperatura ambiente, observando-se o comportamento das curvas nas proximidades da origem do plano cartesiano obtendo-se os parâmetros: coercividade, magnetização de saturação, magnetização remanente e perdas por histerese. As perdas por histerese foram determinadas pela área da curva $M \times H$. Os ciclos de histerese magnética das amostras foram obtidos utilizando um magnetômetro de gradiente alternado (AGM) do Departamento de Física da Universidade de São Paulo.

3.5.8 Testes Magnéticos In Vitro

3.5.8.1 Preparação da Solução Tampão do PBS

Para a preparação da solução tampão do PBS (*phosphate buffered saline*) 0,1M com pH 7, seguiu-se as seguintes etapas: preparou-se uma solução 27,6g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ e adicionou-se 1L de água deionizada. Depois se preparou outra solução com 28,4g de K_2HPO_4 e 1L de água deionizada. Para obter um pH 7, misturou-se em um balão volumétrico de capacidade de 200mL, 39mL da solução de $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ e 61mL da solução de K_2HPO_4 , completando com 100mL de água deionizada. Após a checagem do pH em 7, acondicionou-se a solução de PBS sob refrigeração.

O comportamento magnético das ferritas em estudo foi realizado quando em presença de um ímã permanente. Foram realizados os testes de sedimentação e de separação. Para isso, foram colocadas as amostras dentro de um recipiente contendo solução de PBS (*phosphate buffered saline*) 0,1M com pH 7, e em seguida, aproximou-se o ímã do tipo neodímio de formato circular com diâmetro de 1,2mm. Foram utilizados registros fotográficos com o auxílio de uma câmera fotográfica Sony 6.0 e um cronometro digital da marca Tecnos. O teste magnético *in vitro* foi realizado no Laboratório de Síntese e Materiais Cerâmicos (LabSMaC) da Universidade Federal de Campina Grande.

3.5.8.2 Teste de Sedimentação

Para o teste de sedimentação, utilizou-se 3mL da solução tampão PBS e 50mg das NPMs colocados em um recipiente tampado, a qual foi agitada manualmente em ângulo de 180° por 30 segundos. O tempo de sedimentação foi determinando a partir do momento em que se cessou a agitação e até o momento em que não mais se visualizou a decantação das NPMs.

3.5.8.3 Teste de Separação

Para o teste de separação, em um becker de 10mL, colocou-se 3mL da solução tampão PBS e 50mg das NPMs. Posteriormente, realizou-se agitação manual rotativa com o auxílio de um bastão de vidro e logo em seguida colocou-se o sistema becker + solução de PBS + NPMs sobre o ímã. Após as NPMs sedimentarem, descartou-se o líquido e levou-as para secagem em estufa FANEM modelo 315 a 100°C por 3 horas. Depois de decorrido este tempo, pesou-se as NPMs.

3.5.9 Citotoxicidade

A citotoxicidade das amostras foi determinada pela porcentagem de células que permaneceram viáveis, após a exposição da população celular a diversas concentrações do extrato da substância teste. Para calcular essa porcentagem utilizou-se um corante vital e um agente acoplador de elétrons que ao ser incorporado pela célula produz um composto de coloração específica que pode ser detectado por um espectrofotômetro. A intensidade da cor resultante da incorporação celular é diretamente proporcional ao número de células viáveis em cultura. De acordo com ISO 10993-5, uma amostra é considerada citotóxica se a viabilidade celular (V.C.) resultante da exposição das células ao extrato de maior concentração for menor do que 70% (V.C. < 70%).

O teste de citotoxicidade das amostras em estudo foi conduzido de acordo com as normas ISO 10993-5 (*Biological Evaluation of Medical Devices – part 5 - Tests for in vitro cytotoxicity*) e ISO 10993-12 – (*Biological Evaluation of Medical Devices – part 12: Sample preparation and reference materials*), em que

para a condução desse teste utilizou-se células de ovário de *hamster* chinês da linhagem CHO-K1 (ATCC CCL-61). Os materiais de referência utilizados foram o PEAD (controle negativo – não citotóxico) e o látex (controle positivo – citotóxico).

Para a realização do ensaio pesou-se aproximadamente 800 mg do controle negativo e do controle positivo. As amostras dos materiais de referência foram utilizados para preparar dois extratos na concentração de 200 mg/mL, em que os mesmos foram preparados de acordo com o POP_TEC_002 – preparação dos extratos.

Para aplicação e preparação da substância em teste, no caso as amostras em estudo, pesou-se 1,86 g dos pós, em dois tubos de 15 mL, onde as amostras em teste foram utilizadas para preparar dois extratos na concentração de 200 mg/mL, também de acordo com o POP_TEC_002 – preparação dos extratos.

O ensaio de citotoxicidade foi realizado no Laboratório Biosíntese P&D do Brasil LTDA em São Paulo – SP de acordo com a parceria estabelecida com a Empresa JHS Laboratório Químico LTDA (JHS Biomateriais).

3.5.10 Teste de Imobilização da GOx

3.5.10.1 Método Bradford

O método de Bradford é utilizado para quantificar proteínas totais solubilizadas em meios sem detergentes. Esta técnica utiliza o reagente de Bradford, cujo principal componente é o corante Coomassie brilliant blue G-250. A interação do corante com as proteínas ocasiona a mudança de coloração da solução, sendo o aumento da tonalidade relacionado ao aumento da concentração protéica (BRADFORD, 1976).

A mudança na coloração foi analisada por meio de um espectrofotômetro (marca BEL photonics, modelo SP 2000UV) no comprimento de onda de 595nm. A concentração de uma substância em uma determinada amostra pode ser determinada através da comparação da intensidade da cor obtida nesta amostra com a intensidade da cor produzida em uma solução padrão. Para isso foi realizada uma série de determinações com concentrações

crescentes da solução padrão de BSA (albumina de soro bovino) com a solução tampão PBS, medindo as suas respectivas absorbâncias, gerando assim uma curva de calibração a partir dos valores de absorbância observados no ensaio a ser realizado. O reagente de Bradford foi adquirido diretamente na Sigma-Aldrich.

3.5.10.2 Imobilização da GOx

Para este teste de imobilização foi utilizada a enzima glucose oxidase (GOx). Primeiramente pesou-se 5 mg de GOX, diluída em 100 mL da solução tampão de PBS. Posteriormente, pesou-se 3 mg das NPMs em estudo. Separou-se 1 mL da solução preparada com GOX e adicionou-se as nanopartículas pesadas em um tubo de ensaio. A reação prosseguiu durante 4 h em um shaker (marca Marconi, modelo MA-420) sob 4°C, pressão atmosférica de 1 atm e agitação de 200 rpm. Para atingir 4°C, a solução foi colocada em um recipiente de isopor com gelo, e a temperatura será monitorada através de um termômetro.

Após 4 hs, tirou-se uma alíquota de 0,2 mL da solução de GOX e adicionou-se 6 mL do reagente Bradford.

A solução GOX + reagente de Bradford foi acondicionada em tubos de vidro, enrolados com papel alumínio, a qual permaneceu em repouso por aproximadamente 10 minutos, tempo necessário para que ocorra uma interação entre o corante e a proteína. Após 10 minutos, 3 mL da solução foram colocados nas cubetas e levados para o espectrofotômetro, marca BEL photonics, modelo SP 2000UV, onde leu-se a absorbância medida.

A absorbância foi medida para cada amostra em triplicata. Juntamente com os dados de absorbância e a curva de calibração a este teste determina-se a concentração de GOX imobilizada pelas NPMs.

Por meio de um balanço de massa realizado nesse sistema a quantidade de GOx imobilizada pelas NPMs será calculada por meio da equação 4 :

$$q = \frac{v(C_i - C_f)}{m_{ads}} \quad (4)$$

Onde:

q é a quantidade de GOX imobilizada pelas nanopartículas;

v é o volume da amostra

C_i concentração de GOx inicial;

C_f concentração de GOX após as 4 horas

m_{ads} é a massa de nanopartículas utilizadas

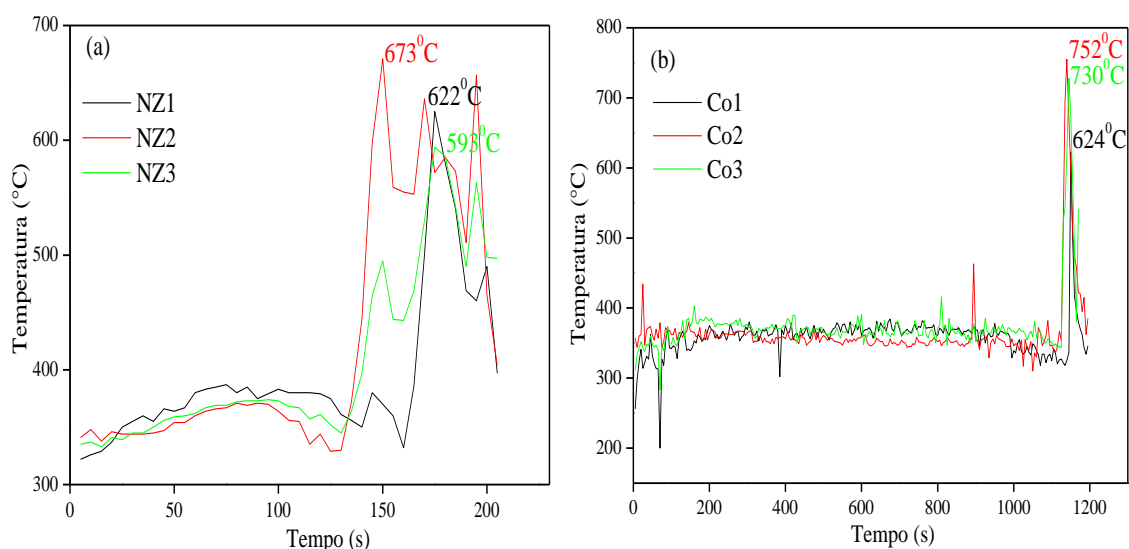
Os ensaios preliminares da imobilização da GOX foram realizados no Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Tempo e Temperatura de Reação

Na Figura 6 encontra-se ilustrada a variação da temperatura em função do tempo das reações de combustão das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 .

Figura 6 - Variação da temperatura da reação em função do tempo de reação referente às NPMs sintetizadas em triplicata (a) NZ e (b) Co.



Na Figura 6a, observa-se de maneira geral para as reações das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ (NZ₁, NZ₂ e NZ₃) apresentaram comportamento temperatura x tempo semelhantes, com oscilações de temperatura no início da reação, anterior aos 140s mantendo a temperatura praticamente estável, por volta de 350°C. A partir desse momento ocorreu um brusco crescimento da temperatura até atingir seu máximo em aproximadamente 673°C, 622°C e 593°C onde houve uma queda para temperatura de aproximadamente 400°C, no intervalo de 160 a 205s.

Mediante a Figura 6b observa-se para as três reações das NPMs de CoFe_2O_4 (Co₁, Co₂ e Co₃) que o comportamento da temperatura em função do tempo foram semelhantes entre si. A temperatura da reação se manteve quase constante, com pequenas oscilações de temperatura. Verificou-se certa estabilidade da temperatura em aproximadamente 355°C até o intervalo de 1120s. Logo após verificou-se um crescimento exponencial da temperatura, onde atingiu picos de 624°C, 752°C e 730°C, respectivamente para as reações

Co1, Co2 e Co3, num intervalo entre 1120 e 1145s, caindo bruscamente para aproximadamente 342°C. Como esperado, a temperatura da chama de combustão aumentou substancialmente logo após a ignição, atingindo a temperatura máxima da reação.

Na Tabela 3, encontram-se reportado os valores médios dos parâmetros: cor da chama, tempo de chama média medida pelo gráfico (s) – t_{mg} , tempo de chama médio medido pelo cronômetro (s) – t_{mc} , temperatura de chama máxima média (°C) – $T_{máx}$, tempo total médio de reação (s) – t_{total} e rendimento médio da reação (g) – R_m , observados e medidos durante as reações em triplicatas para as NPMs de $Ni_{0,5}Zn_{0,5}Fe_2O_4$ e $CoFe_2O_4$.

Tabela 3 – Parâmetros avaliados durante as reações de combustão para as NPMs de $Ni_{0,5}Zn_{0,5}Fe_2O_4$ e $CoFe_2O_4$.

Parâmetros	$Ni_{0,5}Zn_{0,5}Fe_2O_4$ (NZ)	$CoFe_2O_4$ (Co)
Cor da chama	Amarela	Amarela
t_{mg} (s)	$67,0 \pm 6,9$	$58,0 \pm 12,8$
t_{mc} (s)	$72,0 \pm 6,2$	$38,0 \pm 11,8$
$T_{máx}$ (°C)	$629,0 \pm 33,1$	$702,0 \pm 51,6$
t_{total} (s)	$201,0 \pm 8,5$	$1177,0 \pm 9,2$
R_m (g)	$12,3 \pm 1,1$	$19,1 \pm 0,9$

Por meio da avaliação da cor de chama, foi possível verificar durante o desenvolvimento experimental das reações de combustão para a obtenção das NPMs que a chama apresentou coloração amarela para ambos os sistemas nas três reações realizadas. Com relação ao tempo de chama médio, tanto obtido mediante o gráfico da Figura 6a quanto medido utilizando o cronômetro digital, observou-se que os valores obtidos para as NPMs de $Ni_{0,5}Zn_{0,5}Fe_2O_4$ foi maior em aproximadamente 13% e 47% quando comparado com os valores do tempo de chama observado para as NPMs de $CoFe_2O_4$. Isto provavelmente deve-se a existência dos íons diferentes Co, Ni e Zn na composição das NPMs, os quais contribuem de maneira diferente para a cinética da reação.

Para as NPMs de $CoFe_2O_4$, a reação foi mais demorada apresentando um tempo total de reação de quase 6 vezes superior as reações das NPMs de $Ni_{0,5}Zn_{0,5}Fe_2O_4$, porém com tempo médio de chama 47% inferior.

Possivelmente este fato refere-se ao íon cobalto presente nas NPMs de CoFe_2O_4 , uma vez que estes íons apresentam propriedades tais como: calor de fusão, calor de vaporização, ponto de ebulição e de fusão maiores quando comparados com os íons de Ni e Zn presentes nas NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$. A temperatura máxima da chama para as NPMs de CoFe_2O_4 foi aproximadamente 10% maior quando comparada com as das reações das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$. Assim, a temperatura da chama e o tempo da reação dependem diretamente das características intrínsecas dos íons metálicos presentes nos precursores utilizados na reação.

O rendimento médio da reação para as NPMs de CoFe_2O_4 foi aproximadamente 35% maior quando comparado ao rendimento médio da reação para a obtenção das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$. Possivelmente, este fato está relacionado com o comportamento observado da reação dentro do recipiente, uma vez que para as NPMs de CoFe_2O_4 a solução se encontrou mais concentrada e menos espalhada enquanto que para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ observou-se mais espalhada, chegando a atingir toda parede do recipiente e fazendo com que o rendimento fosse menor devido as perdas dos reagentes em volta do recipiente.

De modo geral, verificou-se que os parâmetros de síntese relatados acima, são dependentes diretamente das características intrínsecas dos elementos químicos que fazem parte do sistema das NPMs em estudo, ou seja, dependendo da composição química a cinética da reação de combustão procederá de forma diferenciada o que contribuirá para tempos de chama e temperaturas de combustão específica para cada sistema em estudo.

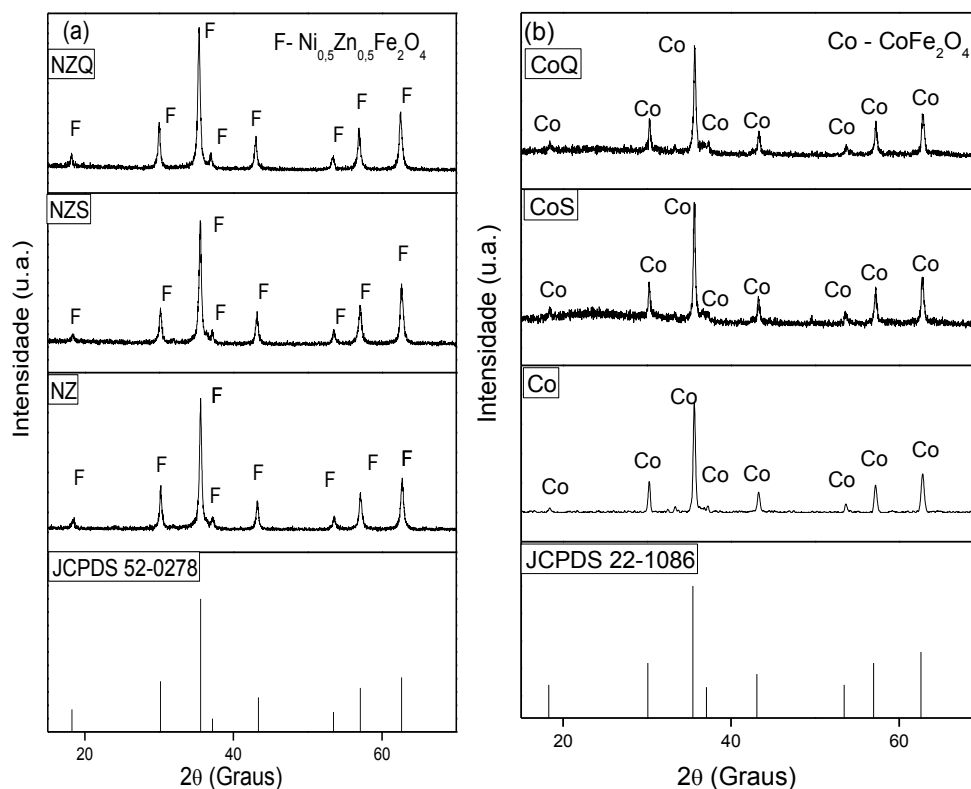
Analizando pelo lado da reprodutibilidade, verifica-se que foi possível obter as reações com características aproximadas, porém como os valores dos desvios padrões dos parâmetros observados foram relativamente elevado é mais estável sempre trabalhar com uma mistura do produto de várias reações.

4.2 Difração de Raios X - DRX

Na Figura 7 encontra-se ilustrado os difratogramas de raios X das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 como sintetizadas por reação de combustão (NZ e Co), silanizadas com o APTS (NZS e CoS) e funcionalizadas com quitosana

(NZQ e CoQ). Os DRXs das amostras realizadas em triplicata encontram-se no anexo A.

Figura 7 – Difratomogramas de raios X experimental e o padrão JCPDS para as ferritas em estudo (a) $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e (b) CoFe_2O_4 .



Mediante os difratogramas de raios X da Figura 7a e 7b, observa-se para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 houve a formação da fase única do espinélio inverso $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 , identificados mediante as fichas cristalográfica (JCPDS 52-0278 e JCPDS 22-1086), respectivamente, indicando que a síntese foi eficiente para a formação completa das fases. Pode-se observar que todos os picos apresentam-se bem definidos, com elevada intensidade e largura basal de todas as reflexões identificadas. A relação entre a intensidade e a largura basal permitiu avaliar que as NPMs sintetizadas apresentam característica de partículas nanométricas e com boa cristalinidade.

Observa-se que o *background* (ruídos) na NPMs de CoFe_2O_4 foi mais intenso que para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e isto dificultou a determinação dos parâmetros de cristalinidade e tamanho de cristalito com maior precisão. Pode-se verificar que a silanização com o APTS e posterior funcionalização com a quitosana aumentaram o *background*, porém a intensidade dos picos de

difração e a largura basal não foram alteradas, indicando que a presença do agente silano e da quitosana não alterou a estrutura cristalina das NPMs em estudo.

A Tabela 4 exibe os dados estruturais de cristalinidade e tamanho de cristalito médio com seus respectivos desvio padrão para o pico de maior intensidade (311) – primeira ordem de difração - obtidos a partir dos resultados de DRX para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 como sintetizada, silanizada com APTS e após funcionalização com quitosana realizadas em triplicata.

Tabela 4 – Cristalinidade, tamanho de cristalito para pico de maior intensidade (311) para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 .

NPMs	Códigos	Tamanho de cristalito médio (311) (nm) $\pm \sigma$	Cristalinidade média (%) $\pm \sigma$
$\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$	NZ	$36,26 \pm 1,96$	$68,02 \pm 6,32$
	NZS	$22,00 \pm 2,30$	$75,16 \pm 8,66$
	NZQ	$17,96 \pm 4,75$	$54,96 \pm 6,79$
CoFe_2O_4	Co	$24,64 \pm 1,61$	$67,94 \pm 3,19$
	CoS	$29,22 \pm 0,94$	$70,40 \pm 7,11$
	CoQ	$28,26 \pm 5,42$	$65,00 \pm 5,19$

De maneira geral, para as ferritas em estudo observa-se com desvio padrão não houve variações significativas no tamanho de cristalito médio e na cristalinidade média, indicando assim que a silanização e funcionalização com a quitosana foram efetivas e que a estrutura das NPMs foi preservada, visto que não apresentaram o surgimento de outra fase (fases secundárias).

Os resultados obtidos nesta pesquisa encontram-se de acordo com os resultados observados por Liu *et al.*, (2012) quando obtiveram o sistema $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2$ e observaram por meio dos padrões de DRX que com o aumento do teor de sílica (0 - 0,20 em peso), por causa da natureza não cristalina da sílica, os picos correspondentes tornam-se menos intensos e mais largos, o que implicou em uma menor cristalinidade e menor tamanho de cristalito, porém, como esta alteração foi discreta, verificou-se que a presença

do agente silano não alterou a estrutura as NPMs $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ em estudo.

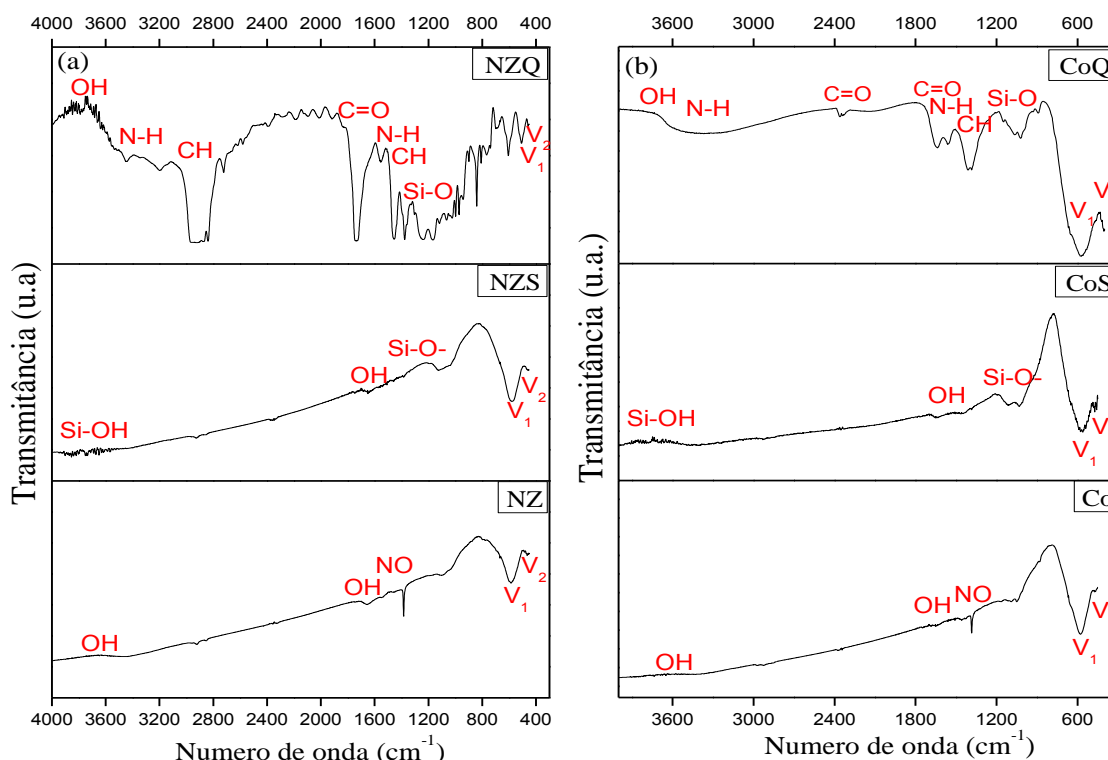
Resultados observados por Covaliu *et al.*, (2013) ao estudarem a obtenção de materiais nanoestruturados híbridos de CoFe_2O_4 revestidos por biopolímeros polivinilpirrolidona (PVP) e polietilenoglicol (PEG) com a finalidade de aplicações biomédicas concluíram que os nanohíbridos de NPMs de cobalto revestidas por PVP e PEG preservaram a estrutura cristalina da ferrita. Estes resultados estão também em concordância com os resultados obtidos nesta pesquisa.

Assim, os resultados mostraram que a presença do silano e da quitosana não promove a formação de fases secundárias e nem alteram a estrutura das NPMs, indicando assim que as ligações ocorrem apenas nas regiões amorfas do polímero sem interferir na cristalinidade do material magnético. Esta constatação também foi reportada nos estudos de Yuwei e Jianlong, (2011), quando preparam Fe_3O_4 pelo método de coprecipitação com quitosana, observaram que os resultados de DRX para Fe_3O_4 pura e Fe_3O_4 com quitosana foram coincidentes, ou seja, a estrutura das NPMs não foi modificada com a adição da quitosana.

4.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier- FTIR

Na Figura 8 encontram-se os espectros vibracionais na região do infravermelho, na faixa de $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$, referente às NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 como sintetizadas por reação de combustão, silanizadas com APTS e após funcionalização com quitosana.

De acordo com os espectros das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 como sintetizada (NZ e Co), observa-se duas bandas fracas de absorção por volta de 1600 e 3600 cm^{-1} que são atribuídos ao estiramento do grupo O-H devido à água livre e/ou absorvida.

Figura 8 – Espectros na região do infravermelho referente às NPMs em estudo(a) $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e (b) CoFe_2O_4 .

Outra banda fraca de absorção pode ser observada em volta de 1400 cm^{-1} atribuída à vibração da ligação N-O decorrente do nitrato usado para obtenção das NPMs, grupo este presente no produto da reação de combustão. Na faixa de 1000-400 cm^{-1} , as bandas no infravermelho dos sólidos são geralmente caracterizadas por vibrações de íons na rede do cristal. As principais bandas neste intervalo estão por volta de 600 e 400 cm^{-1} correspondente aos estiramentos v_1 e v_2 dos sítios tetraédricos e octaédricos da estrutura cristalina do espinélio inverso. Pode-se observar mediante os espectros, a presença destas duas bandas v_1 e v_2 características da estrutura espinélio para as NPMs sintetizadas (NZ e Co), silanizadas com o APTS (NZS e CoS) e funcionalizada com quitosana (NZQ e CoQ).

A presença destas bandas v_1 e v_2 características dos sítios tetraédricos e octaédricos da estrutura cristalina do espinélio, também foi reportada por SANTOS, (2011) quando estudou NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ dopadas com íons Cu^{2+} e Al^{3+} por reação de combustão e por Khandekar *et al.*, (2011), quando estudaram as propriedades estruturais e elétricas das NPMs de cobalto sintetizada por reação de combustão e o efeito da temperatura de calcinação

sobre as amostras sintetizadas. Os autores observaram estas duas bandas por volta de $740\text{-}780\text{ cm}^{-1}$ e $460\text{-}490\text{ cm}^{-1}$. No presente trabalho, estas bandas foram observadas para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 como sintetizadas por volta de $576\text{-}575\text{ cm}^{-1}$ e $452\text{-}443\text{ cm}^{-1}$, respectivamente.

Para as amostras silanizadas com APTS além das bandas visualizadas para NPMs como sintetizadas, observou-se uma banda de absorção larga em torno $3900\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ atribuído à sobreposição nos estiramentos dos grupos funcionais O-H e/ou Si-OH. Observou-se também a presença de bandas em torno de 1150 cm^{-1} e 1022 cm^{-1} que correspondem ao estiramento assimétrico do grupo Si-O- proveniente da modificação da superfície com o agente silano APTS.

Kooti e Afshari (2012) ao prepararem um catalisador constituído por ácido fosfotúngstico suportado em nanopartículas de cobalto revestidos por sílica observaram bandas de absorção características de ligações simétricas e assimétricas do grupo Si-O-Si por volta de 1088 cm^{-1} . Tang *et al.* (2012), quando estudaram o compósito $\text{Co}_{0,8}\text{Ni}_{0,2}\text{Fe}_2\text{O}_4/\text{PVP}$ usando o agente de acoplamento silano metacrilato de 3-trimetoxissilil observaram bandas características do agente silano indicando que os grupos reativos foram introduzidas na superfície das nanopartículas, ou seja, as nanopartículas silanizadas foram formadas por uma reação entre o silano e os grupos hidroxilas da superfície das nanopartículas. Os resultados de Kooti e Afshari (2012) estão em concordância com os resultados da presente tese.

Para as amostras funcionalizadas com quitosana além das bandas visualizadas para as NPMs como sintetizadas e silanizadas observou-se uma banda de absorção larga em torno $3800\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$ atribuída à sobreposição nos estiramentos dos grupos funcionais O-H e/ou N-H, assim como as ligações de hidrogênio intermoleculares das cadeias do polissacarídeo. Observou-se em torno de 3000 cm^{-1} a presença de uma banda ocasionada por vibrações de estiramento do grupo C-H assimétrico e simétrico, provenientes dos grupos metila pertencentes aos radicais da quitosana que não foram desacetilados e aos radicais metilenos existentes na estrutura. Característica esta também confirmada por Fidèles (2010), quando promoveu a reticulação de filmes de quitosana para aplicação como biomaterial.

As bandas em 1690 cm^{-1} , 2200 cm^{-1} e 1587 cm^{-1} estão relacionadas ao modo de vibração por estiramento da ligação C=O e à deformação da ligação N-H, respectivamente. A existência dessas duas bandas (C=O e N-H) conjuntamente indica a presença de grupos amidas. Em regiões próximas a esta faixa, ocorre absorção média/forte e larga atribuída ao estiramento nas aminas primárias. Em aproximadamente 1462 cm^{-1} ocorre uma absorção que pode ser atribuída à deformação simétrica de C-H. Algumas destas bandas confirmam a presença de materiais orgânicos, como o agente silano e da quitosana.

4.4 Análise Química por Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva – EDX

As Tabelas 5 e 6 apresentam os valores experimentais da análise semi-quantitativa dos óxidos presentes nas NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 , determinados por EDX. Os cálculos teóricos do percentual de cada óxido presente para as NPMs em estudo encontram-se no Apêndice B. Todos os reagentes utilizados para a síntese das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 possuem grau de pureza 98%, isto significa que 2% são de impurezas, relatadas pelo fabricante como resíduos de cloreto, sulfato, ferro, cálcio, magnésio, potássio, sódio, níquel, chumbo, zinco e cobalto. Estes ensaios foram obtidos em triplicatas e reportados os valores médios com seus respectivos desvios padrões.

Tabela 5 - Percentuais de óxidos determinados por EDX presentes nas NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ como sintetizada, silanizada com APTS e funcionalizada com quitosana.

Óxidos	$\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4^{**}$	NZ	NZS	NZQ
Fe_2O_3	67,17	$67,08 \pm 1,35$	$64,31 \pm 1,31$	$67,06 \pm 0,50$
ZnO	17,11	$15,50 \pm 0,32$	$15,41 \pm 0,15$	$13,79 \pm 0,31$
NiO	15,71	$16,72 \pm 1,22$	$15,70 \pm 0,21$	$16,51 \pm 1,12$
SiO_2^*	NC	NC	$4,50 \pm 1,34$	$1,94 \pm 0,26$
Al_2O_3^*	NC	$0,690 \pm 0,23$	NC	NC
CaO^*	NC	$0,067 \pm 0,005$	NC	NC

*Impurezas: óxido de silício, cloreto, sulfato, ferro, cálcio, magnésio, potássio, sódio, níquel, chumbo, zinco e cobalto. NC = não consta.

**Valor Teórico.

De forma geral, para os resultados das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$, observou-se que os valores foram próximos aos valores experimentais, considerando o fato dos reagentes utilizados conterem 2% de impurezas. Observou-se também que os valores experimentais dos óxidos Fe_2O_3 e NiO se mantiveram próximas aos valores teóricos, apenas para o óxido ZnO a variação foi mais significativa, possivelmente por o Zn ser parcialmente volatilizado. Comportamento semelhante a este já foi relatado por Vieira, 2009 quando estudou a síntese por energia de microondas de ferritas Ni-Zn.

Pode-se observar que após silanização e adição do polímero quitosana a presença do óxido SiO_2 proveniente do silano APTS, comprovando assim a eficácia da silanização e adição de quitosana nas NPMs de em estudo.

Ao analisar os resultados de EDX para as NPMs de CoFe_2O_4 verificou-se que os valores experimentais dos óxidos Fe_2O_3 e Co_2O_3 houve variação significativa, porém, como este resultado deve-se a análise semiquantitativa que realiza um balanço estequiométrico dos óxidos durante as análises, a medida que um aumenta, o outro automaticamente reduz, conduzindo ao total de óxidos de 100%.

Tabela 6 - Percentuais de óxidos determinados por EDX presentes nas NPMs de CoFe_2O_4 como sintetizada, silanizada com APTS e funcionalizada com.

Óxidos	CoFe_2O_4 **	Co	CoS	CoQ
Fe_2O_3	49,05	$63,93 \pm 1,62$	$64,44 \pm 0,94$	$61,71 \pm 1,08$
Co_2O_3	50,95	$35,81 \pm 1,45$	$32,56 \pm 0,36$	$32,49 \pm 0,75$
SiO_2^*	NC	NC	$2,80 \pm 0,97$	$4,05 \pm 1,67$
Al_2O_3^*	NC	NC	$0,10 \pm 0,04$	NC
Cr_2O_3^*	NC	$0,084 \pm 0,02$	$0,063 \pm 0,03$	$0,07 \pm 0,02$
ZnO^*	NC	NC	NC	$0,08 \pm 0,01$

*Impurezas: óxido de silício, cloreto, sulfato, ferro, cálcio, magnésio, potássio, sódio, níquel, chumbo, zinco, silício, alumínio, cromo. NC = Não consta.

** Valor Teórico.

Observou-se também um pequeno aumento na quantidade composicional de algumas impurezas e consequentemente a redução dos óxidos envolvidos após silanização e adição de quitosana às ferritas. Pode-se observar que após silanização e adição do polímero quitosana a presença do óxido SiO_2 proveniente do silano APTS, comprovando assim, a eficácia da silanização e adição de quitosana nas NPMs em estudo.

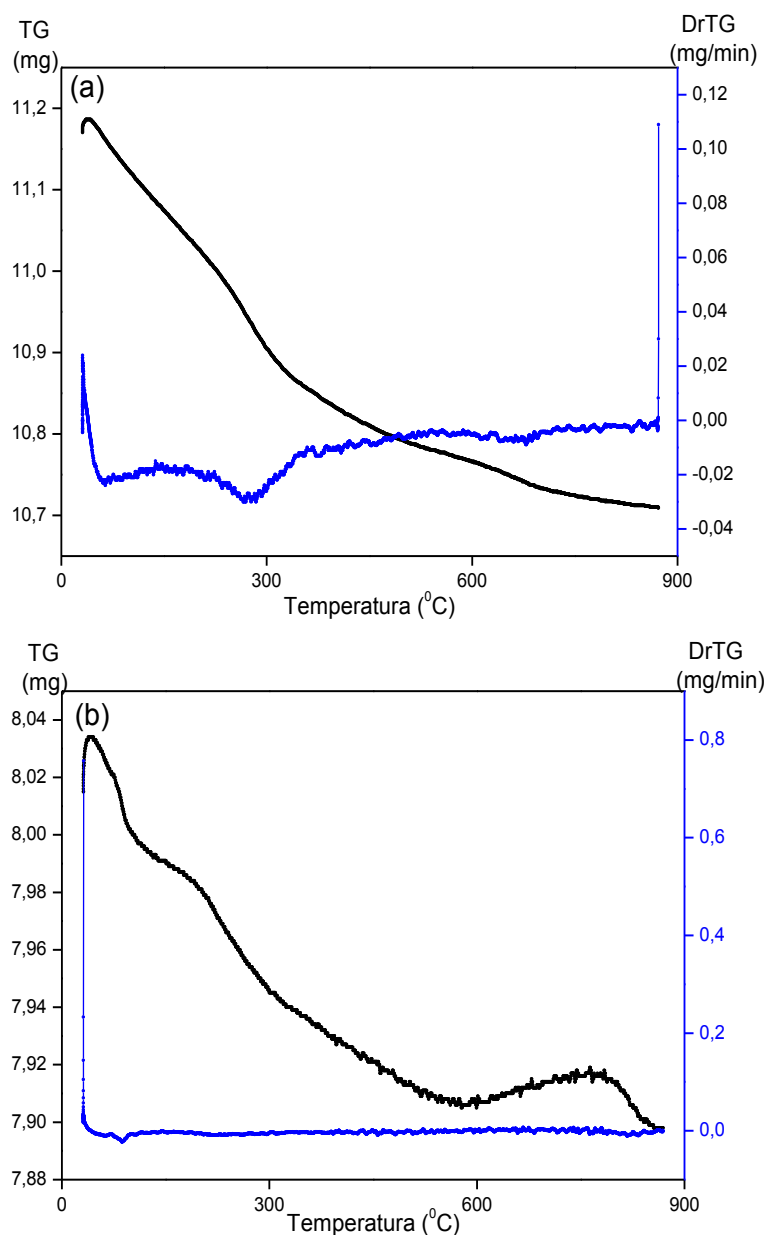
A partir dos dados expressos foi possível verificar que as amostras após silanização e adição de quitosana apresentaram quantidade expressiva de impurezas, isso é motivado pelos procedimentos e introdução de mais reagentes para obter as ferritas híbridas, logo favorece a contaminação do produto final, introduzindo assim, outros materiais indesejados que se encontram nas amostras em estudo.

4.5 Análise Termogravimétrica – TG

A Figura 9 ilustra os eventos observados a partir das curvas sobrepostas de TG e DrTG para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 como sintetizada (NZ e Co), a partir dos quais pode-se determinar as temperaturas de decomposição e a perda de massa (%).

Ao visualizar as curvas relativas à TG e DrTG na Figura 9a, pode-se observar que as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ como sintetizada por reação de combustão apresentaram perda de massa total equivalente a uma perda de massa percentual de 4,12%, em três etapas de decomposição. A primeira etapa ocorre na faixa de 35°C a 200°C com perda de massa de 1,32%, a segunda perda de massa ocorre entre 200°C a 560°C com perda de 2,20%, e a terceira perda de massa ocorreu entre 560°C até 796°C referente a uma perda de massa de aproximadamente 0,60%.

Figura 9 – Curvas sobrepostas de TG e DrTG das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 como sintetizadas por reação de combustão: (a) NZ e (b) Co.



Ao visualizar as curvas relativas à TG e DrTG na Figura 9b, pode-se observar que as NPMs de CoFe_2O_4 como sintetizada por reação de combustão apresentaram perda de massa total equivalente a uma perda de massa percentual de 1,64%, em três etapas de decomposição. A primeira etapa ocorre na faixa de 35 $^{\circ}\text{C}$ a 200 $^{\circ}\text{C}$ com perda de massa de 0,66%, a segunda perda de massa ocorre entre 200 $^{\circ}\text{C}$ a 582 $^{\circ}\text{C}$ com perda de 0,95%, e a terceira perda de massa ocorreu entre 582 $^{\circ}\text{C}$ até 839 $^{\circ}\text{C}$ referente a uma perda de massa de aproximadamente 0,04%.

Observa-se também para as NPMs de CoFe_2O_4 que na faixa de temperatura de 620°C a 770°C houve um aumento de massa que pode ser causado por uma possível redução dos íons de Fe^{3+} à Fe^{2+} proveniente da atmosfera dos gases de síntese. Esta redução favorece a formação da fase magnetita (FeFe_2O_4), porém a quantidade deve ser muito discreta na forma de traços, o que não foi detectado nos difratogramas de raios X ilustrados na Figura 7b. Comportamento semelhante foi reportado por Ge *et al.* (2012) quando estudaram a remoção de íons de metais pesados presente em soluções aquosas por nanopartículas magnéticas com superfície modificada e por TG observaram ganho de massa devido à oxidação da Fe_3O_4 .

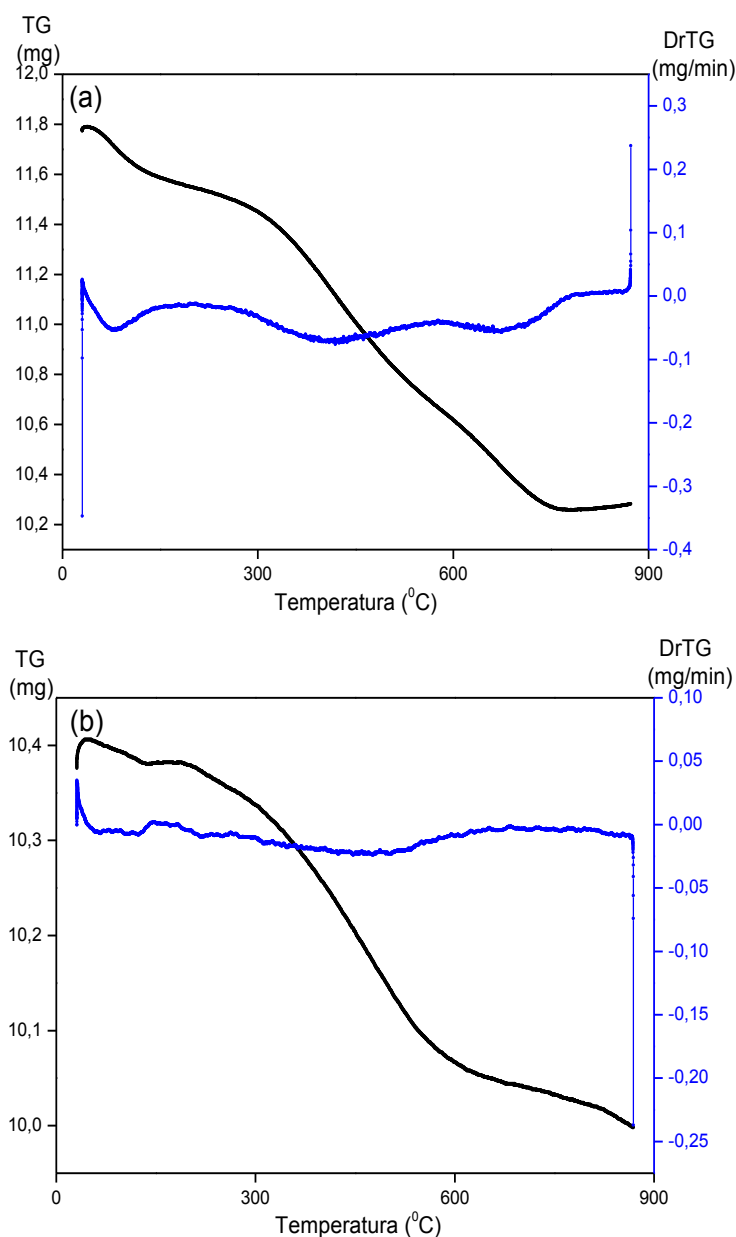
De maneira geral, a primeira perda de massa está associada evaporação de água adsorvida fisicamente. A segunda perda de massa, está associado a remoção de água estrutural (desidroxilação) da superfície das NPMs. A terceira perda de massa corresponde a recristalização da fase do espinélio em estudo.

A Figura 10 ilustra os eventos observados a partir das curvas sobrepostas de TGA e DrTG para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 silanizadas com o APTS (NZS e CoS), a partir das quais pode-se determinar as temperaturas de decomposição e a perda de massa (%).

Ao visualizar as curvas relativas à TG e DrTG na Figura 10a, pode-se observar que as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ após silanizadas com o APTS apresentaram perda de massa total equivalente a aproximadamente 13,14%, em três etapas de decomposição. A primeira etapa ocorre na faixa de 33°C a 200°C com perda de massa de 1,91%, a segunda perda de massa ocorre entre 200°C a 561°C com perda de 7,32%, e a terceira perda de massa ocorreu entre 561°C até 669°C referente a uma perda de massa de aproximadamente 3,91%.

Ao visualizar as curvas relativas à TG e DrTG na Figura 10b, pode-se observar que as NPMs de CoFe_2O_4 após silanizadas com o APTS apresentaram perda de massa total equivalente a uma perda de massa percentual de 3,87%, em três etapas de decomposição. A primeira etapa ocorre na faixa de 35°C a 190°C com perda de massa de 0,21%, a segunda perda de massa ocorre entre 190°C a 620°C com perda de 3,11%, e a terceira perda de massa ocorreu entre 620°C até 870°C referente a uma perda de massa de aproximadamente 0,58%.

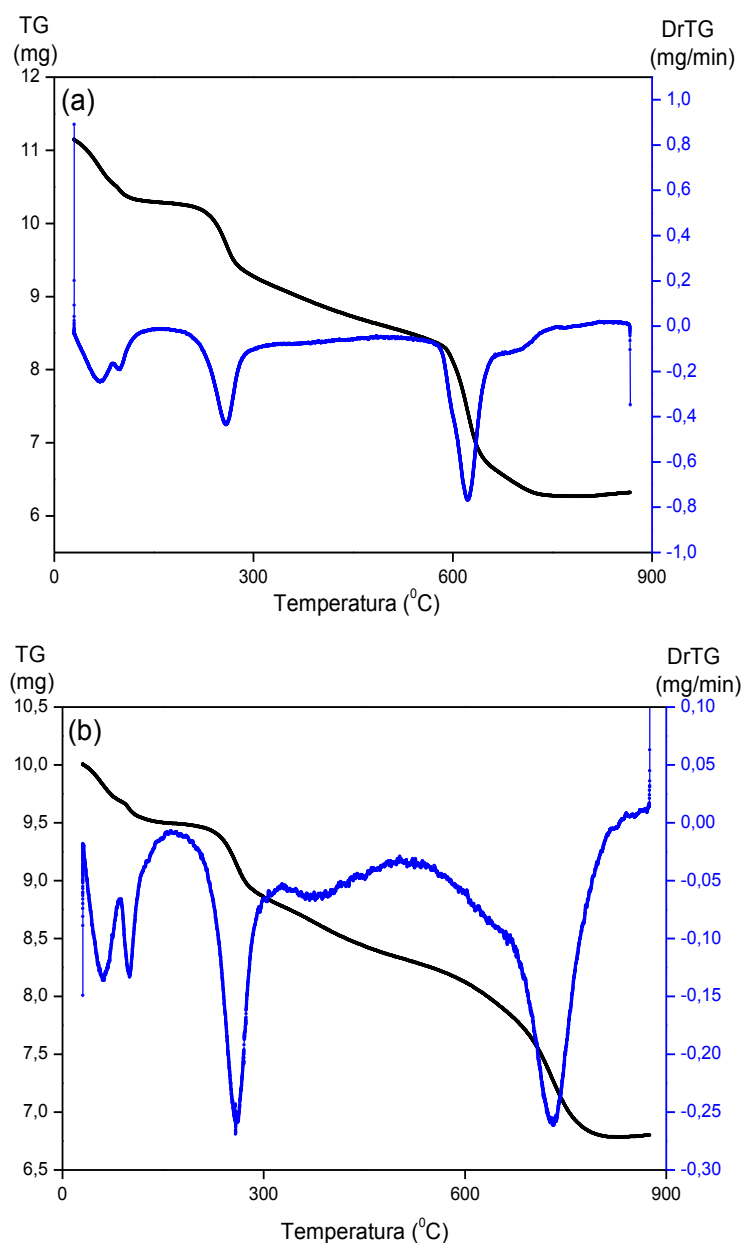
Figura 10 – Curvas sobrepostas de TG e DrTG das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 silanizadas com o APTS: (a) NZS e (b) CoS.



De maneira geral, para as NPMs silanizadas com o APTS, a primeira perda de massa está associada evaporação de água adsorvida fisicamente pelas NPMs silanizadas. A segunda perda de massa, está associado a remoção de água estrutural (desidroxilação) da superfície das NPMs silanizadas como também a decomposição do agente silano APTS. A terceira perda de massa pode ser atribuída à condensação do silanol. Estas mesmas características foram reportadas por KHANNA e VERMA (2013) quando estudaram a ferrita de potássio KFe_2O_4 revestida por sílica.

A Figura 11 ilustra os eventos observados a partir das curvas sobrepostas de TGA e DrTG para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 após funcionalização com quitosana (NZQ e CoQ), a partir dos quais pode-se determinar as temperaturas de decomposição e a perda de massa (%).

Figura 11 – Curvas sobrepostas de TG e DrTG das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 após funcionalização com quistosana: (a) NZQ e (b) CoQ.



Ao visualizar as curvas relativas à TG e DrTG na Figura 11a, pode-se observar que as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ após funcionalizada com quitosana apresentaram perda de massa total equivalente a uma perda de massa percentual de aproximadamente 52,02%, em quatro etapas de decomposição. A primeira etapa ocorre na faixa de 30°C a 200°C com perda de massa de

7,61%, a segunda perda de massa ocorre entre 200°C a 282°C com perda de 8,89%, a terceira perda de massa ocorreu entre 282°C até 590°C referente a uma perda de massa de aproximadamente 11,29% e a quarta perda de massa ocorreu na faixa de temperatura de 590°C até 740°C referente a uma perda de aproximadamente 24,23%.

Ao visualizar as curvas relativas à TG e DrTG na Figura 11b, pode-se observar que as NPMs de CoFe_2O_4 após funcionalizada com quitosana apresentaram perda de massa total equivalente a uma perda de massa percentual de 36,22%, em quatro etapas de decomposição. A primeira etapa ocorre na faixa de 30°C a 204°C com perda de massa de 5,33%, a segunda perda de massa ocorre entre 204°C a 298°C com perda de 5,79%, a terceira perda de massa ocorreu entre 298°C até 530°C referente a uma perda de massa de aproximadamente 7,01% e a quarta perda de massa ocorreu na faixa de temperatura de 530°C até 803°C referente a uma perda de aproximadamente 18,12%.

De maneira geral, para as NPMs funcionalizadas com a quitosana, a primeira perda de massa está associada à evaporação de água adsorvida fisicamente pelas NPMs com quitosana. Pode-se observar que essa primeira perda de massa foi superior quando comparada com as NPMs como sintetizadas, pois pode estar relacionado ao caráter hidrofílico que a quitosana proporciona às NPMs. Comportamento semelhante a este que foi também reportado por Dodi *et al.* (2012) quando estudaram nanocompósitos de partículas magnéticas com quitosana. A segunda perda de massa, está associado a remoção de água estrutural (desidroxilação) da superfície das NPMs, decomposição do agente silano APTS e às cadeias carbônicas da quitosana. A terceira e quarta perda de massa pode ser atribuída a decomposição da quitosana. De acordo com a literatura (SHETE *et al.*, 2014) a quitosana se decompõe em torno de 200°C, logo, nesta faixa de temperatura observada na curva TG toda a quitosana já tem se decomposta, resultando numa elevada perda de massa.

As temperaturas de decomposição dos diferentes eventos e a perda de massa (%) obtidas a partir das curvas termogravimétricas reportadas nas Figuras 9, 10 e 11, estão contidas na Tabela 7.

Tabela 7 - Temperatura de decomposição e perda de massa durante a análise termogravimétrica para as NPMs em estudo.

Amostra	Temperatura de Decomposição (°C)	Perda de Massa (%)
NZ	35 – 200	1,32
	200 – 560	2,20
	560 – 796	0,60
NZS	33 – 200	1,91
	200 – 561	7,32
	561 – 669	3,91
NZQ	30 – 200	7,61
	200 – 282	8,89
	282 – 590	3,91
	590 – 740	24,23
Co	35 – 200	0,66
	200 – 582	0,95
	582 – 839	0,04
CoS	35 – 190	0,21
	190 – 620	3,11
	620 – 870	0,58
CoQ	30 – 204	5,33
	204 – 298	5,79
	298 – 530	7,01
	530 – 803	18,12

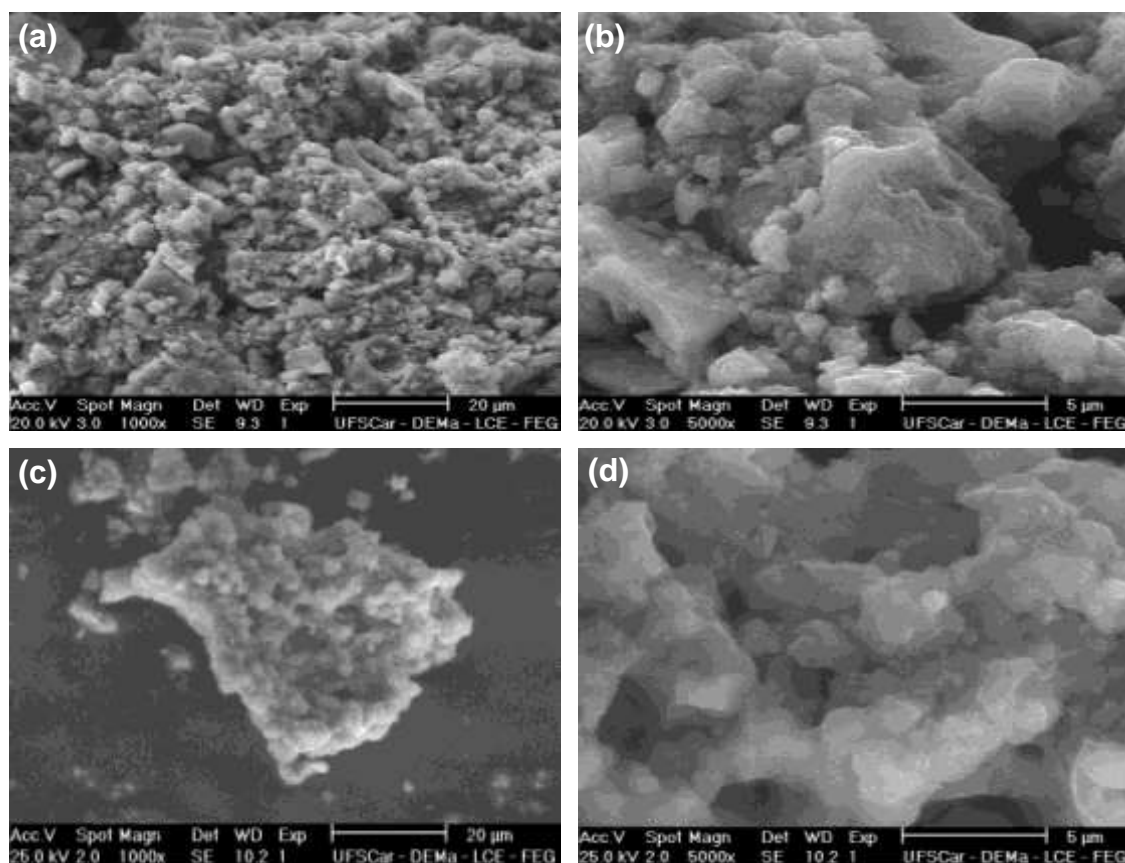
Ao comparar os resultados obtidos para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 sintetizadas, silanizadas com o APTS e funcionalizadas com quitosana observou-se que as NPMs funcionalizadas com a quitosana (NZQ e CoQ) apresentaram uma perda de massa superior às NPMs sintetizadas (NZ e Co) e silanizadas com o APTS (NZS e CoS). Isto pode ser justificado pelo fato da quitosana ser uma macromolécula polimérica que quando submetida a altas

temperaturas tendem a sofrer decomposição de sua cadeia liberando monômeros livres (FURTADO, 2013).

4.6 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV

A morfologia das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 obtidas por reação de combustão (NZ e Co), após silanização com APTS (NZS e CoS) e funcionalizadas com quitosana (NZQ e CoQ) podem ser observadas nas Figuras 12, 13 e 14, em escalas de 20 e 5 μm .

Figura 12 - Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura das NPMs obtidas por reação de combustão: (a) NZ escala de 20 μm ; (b) NZ escala de 5 μm ; (c) Co escala de 20 μm e (d) Co escala de 5 μm .

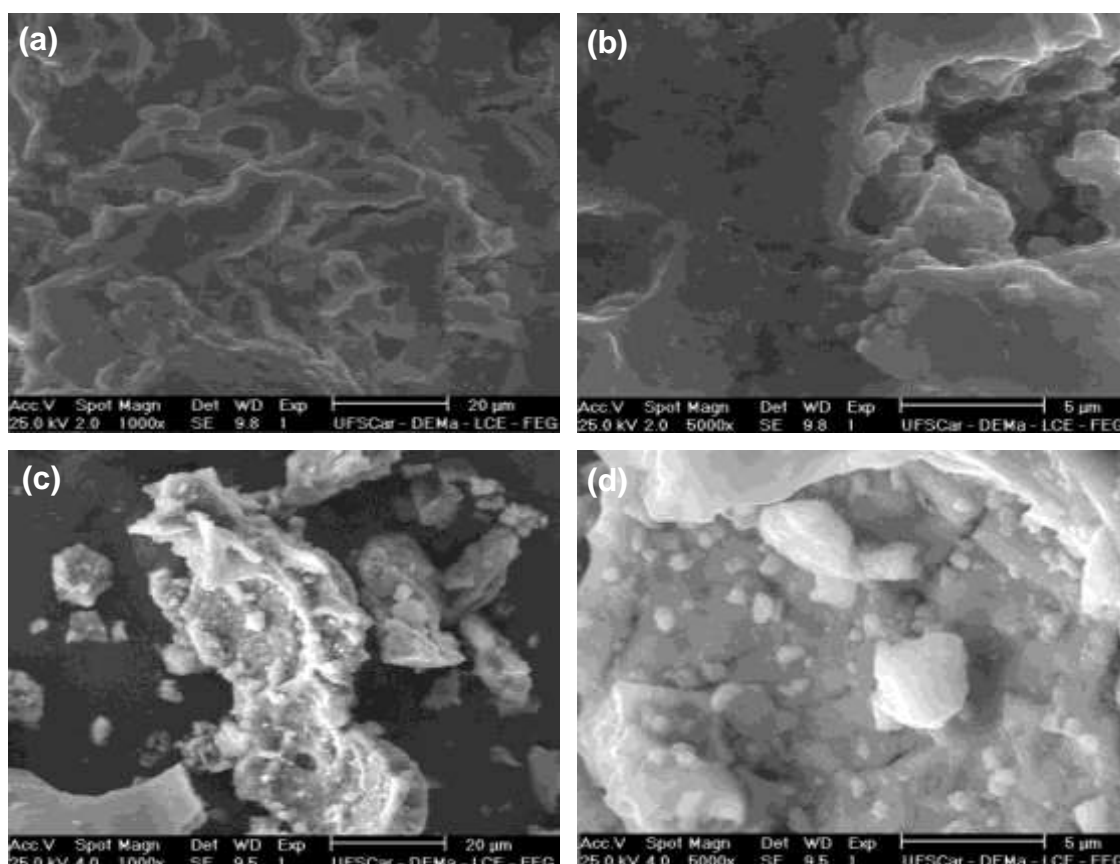


Mediante as Figuras 12a, 12b, 12c e 12d, observa-se que as NPMs sintetizadas (NZ e Co) apresentaram uma morfologia caracterizada por partículas e/ou aglomerados com formatos irregulares e tamanhos variados (maiores e menores que 20 μm). Estas partículas estão possivelmente interligadas por forças fracas e com porosidade interpartículas, o que permite

que sejam facilmente desaglomeradas. Este comportamento também foi reportado por Sanjai *et al.* (2014) quando estudaram NPMs de Fe_3O_4 sintetizadas por coprecipitação.

Para as amostras silanizadas com o APTS (NZS e CoS), Figuras 13a, 13b, 13c e 13d, observou-se aglomerados com aspecto mais rígido e baixa porosidade, possivelmente devido à ligação do silano com a superfície das NPMs, o qual promove um efeito selador na superfície dos aglomerados e partículas. Nestes aglomerados as partículas estão mais interligadas, ou seja, apresenta uma menor porosidade interpartícula, o que é um indicativo da ação do agente silano que envolve as partículas diminuindo sua área superficial e favorecendo a uma menor formação de aglomerados.

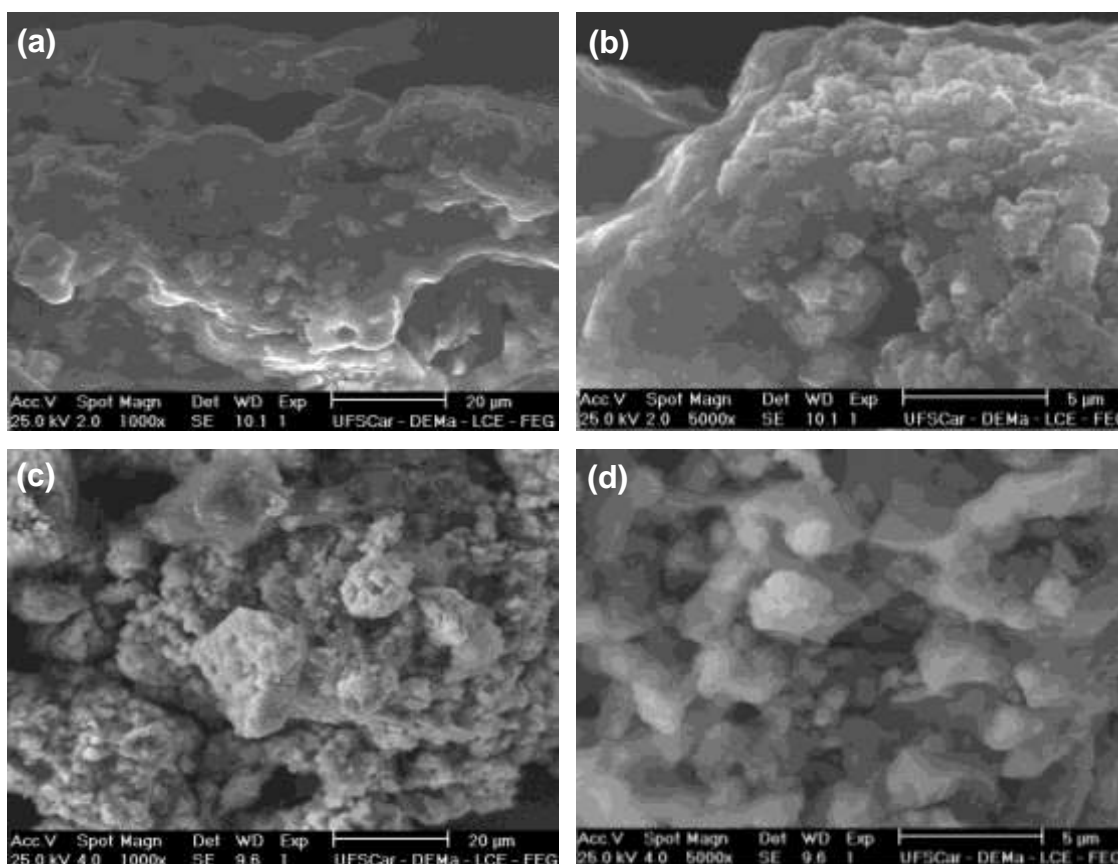
Figura 13 - Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura das ferritas silanizadas com o APTS: (a) NZS escala de 20 μm ; (b) NZS escala de 5 μm ; (c) CoS escala de 20 μm e (d) CoS escala de 5 μm .



Estas alterações morfológicas indicam a modificação da superfície NPMs em estudo pelo agente silano, o que vem confirmar os resultados obtidos nas análises anteriores. Os resultados observados nesta pesquisa estão

em concordância com o trabalho desenvolvido por Wang *et al.* (2011) quando estudaram $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2$ seguida de funcionalização com grupo amino para uso em transportador de imobilização de enzimas, observaram por meio das micrografias do MEV que a configuração da superfície das nanopartículas em estudo apresentava-se bastante áspera e rígida.

Figura 14 - Micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura das NPMs funcionalizada com a quitosana: (a) NZQ escala de 20 μm ; (b) NZQ escala de 5 μm ; (c) CoQ escala de 20 μm e (d) FoQ escala de 5 μm .



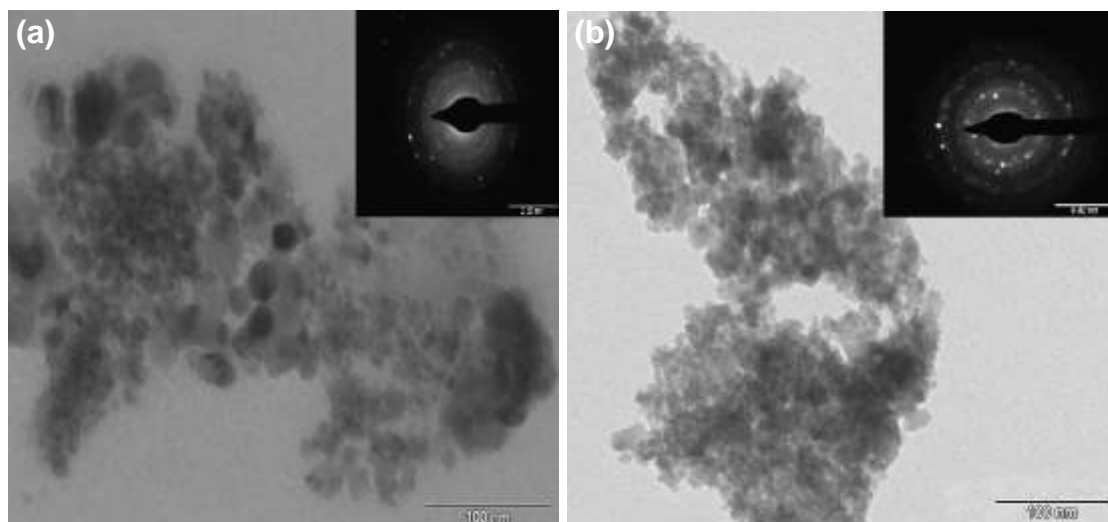
Para as amostras após funcionalização com quitosana (NZQ e CoQ), Figuras 14a, 14b, 14c e 14d, pode-se visualizar uma morfologia não homogênea, composta por um filme de partículas impregnadas e dispersas com formatos irregulares. Nota-se que as NPMs apresentam-se como envolvidas ou encapsuladas pela quitosana. Este mesmo fenômeno também foi observado por Sanjai *et al.* (2014) quando estudaram nanopartículas de óxido de ferro superparamagnético (SPIONPs) encapsuladas com quitosana para uso como agente de contraste para IRM, observaram que a morfologia das nanopartículas SPIONP nativas, ou seja, sem adição da quitosana, tendiam a

se agregar devido à sua grande área superficial específica e alta energia de superfície e que após adição da quitosana, observaram uma dispersibilidade das SPIONPs, característica esta, desejável para o seu uso em aplicações biomédicas.

4.7 Microscopia Eletronica de Transmissão - MET

Nas Figuras 15, 16 e 17 podem ser visualizadas as morfologias das partículas determinadas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) em campo claro (DF), juntamente com o padrão de difração (SADPs) para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 obtidas por reação de combustão (NZ e Co), silanizadas com APTS (NZS e CoS) e após funcionalização com a quitosana (NZQ e CoQ), respectivamente.

Figura 15 - MET das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 obtidas por reação de combustão e seu padrão de difração (SADPs): (a) NZ e (b) Co.

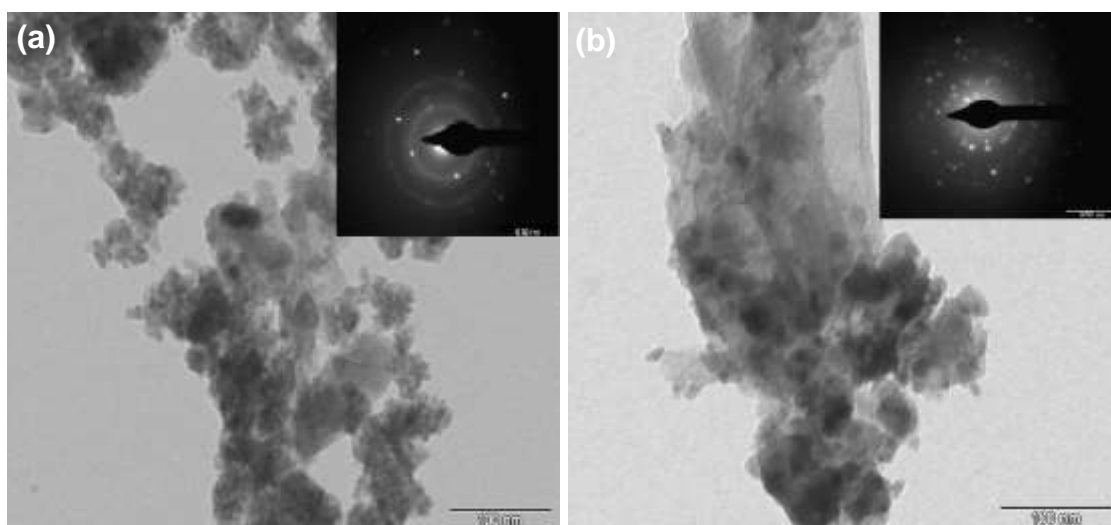


Mediante as Figuras 15a e 15b, observa-se que as NPMs sintetizadas (NZ e Co) apresentaram uma morfologia caracterizada por partículas e/ou aglomerados com formatos irregulares e tamanhos variados. Para a amostra NZ (Figura 15a) observa-se uma morfologia constituída de aglomerados de partículas com formato aproximadamente esférico, com tamanhos das partículas entre 6 a 24nm, e tamanho médio de 13nm calculado a partir da contagem de 10 partículas obtidas por meio das micrografias de MET. Para a amostra Co (Figura 15b), os tamanhos das partículas variam de 5 a 15nm, e

tamanho médio de 7nm calculado a partir da contagem de 10 partículas obtidas por meio das micrografias de MET. Comportamento semelhante foram reportados por Balavijayalakshmi *et al.*, 2014 quando sintetizaram a ferrita $\text{Co}_{0,4}\text{Ni}_{0,4}\text{Cu}_{0,2}\text{Fe}_2\text{O}_4$ por coprecipitação com o objetivo de estudar suas propriedades estruturais e magnéticas e observaram pelas imagens de MET que a ferrita em estudo era formada por partículas com forma esférica e dispersa uniformemente com tamanho de cristalito aproximadamente de 12 a 16nm.

No padrão de difração de elétrons pode-se observar anéis concêntricos, com linhas bem definidas, que distam uma das outras por largas distâncias. Estes anéis que correspondem aos principais planos $\{hkl\}$ pertencentes à fase do espinélio AB_2O_4 , comprovam a cristalinidade do material. A abertura selecionada permitiu revelar os principais anéis correspondentes a estrutura do espinélio.

Figura 16 - MET das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 silanizadas com APTS e seu padrão de difração (SADPs): (a) NZS e (b) CoS.



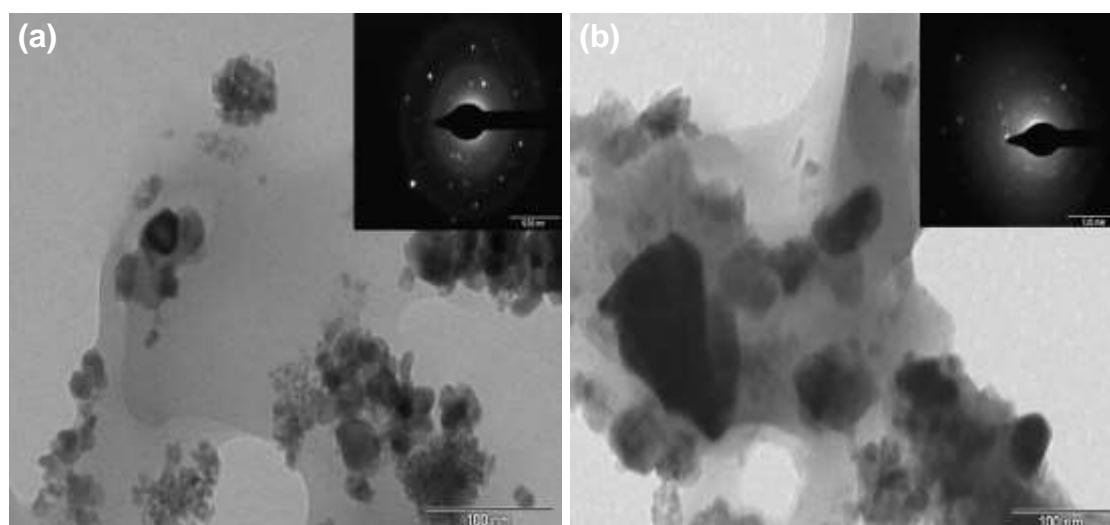
Mediante as Figuras 16a e 16b, observa-se que as NPMs silanizadas com APTS (NZS e CoS) apresentaram uma morfologia caracterizada por aglomerados com aspecto mais rígido e baixa porosidade. Nestes aglomerados as partículas estão mais interligadas, ou seja, o agente silano envolveu melhor as NPMs. Para a amostra NZS (Figura 16a), observa-se que os tamanhos das partículas variam de 8 a 40nm, com tamanho médio de 21nm. Para a amostra

CoS (Figura 16b), os tamanhos das partículas variam de 9 a 39nm, e tamanho médio de 21nm.

Esses resultados estão em concordância na faixa de valores obtidos por Khanna e Verma (2013), quando estudaram o revestimento de sílica em nanopartículas de ferrita de potássio ($KFeO_2$) e observaram a morfologia das nanopartículas com formação de sílica revestindo-as com uma distribuição de tamanho de cerca de 10 - 22nm, observou ainda redução da aglomeração devido o revestimento de sílica nas nanopartículas de ferrita de potássio.

No padrão de difração de elétrons, observam-se anéis concêntricos com linhas finas, pertencentes ao espinélio, verificando que a sinalização com APTS das ferritas não alterou significativamente a cristalinidade do material. A abertura selecionada permitiu revelar os principais anéis correspondentes a estrutura do espinélio.

Figura 17 - MET das NPMs de $Ni_{0,5}Zn_{0,5}Fe_2O_4$ e $CoFe_2O_4$ funcionalizadas com quitosana e seu padrão de difração (SADPs): (a) NZQ e (b) CoQ.



De maneira geral para as NPMs após funcionalização com quitosana, pode-se observar uma morfologia com partículas de formatos irregulares, não homogênea, composta por um filme de partículas impregnadas com tamanho menor e maior que 100nm. Para a amostra NZQ (Figura 17a), os tamanhos das partículas variaram de 6 a 42nm, com tamanho médio de 25nm. Para a amostra CoQ (Figura 17b), os tamanhos das partículas variaram de 7 a 125nm, com tamanho médio de 33nm. O padrão de difração de elétrons para as ferritas funcionalizadas com quitosana apresentaram anéis com linhas

definidas e afastadas umas das outras. Uma vez que estes anéis correspondem a família de planos $\{hkl\}$ do espinélio em análise observa-se que a funcionalização das NPMs com a quitosana causou uma desorganização na rede do espinélio.

Os resultados obtidos estão em concordância com a faixa de valores dos tamanhos das nanopartículas reportados por Zhou *et al.*, (2013), quando estudaram nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 revestidas com quitosana e observaram nas micrografias do MET que os tamanhos das nanopartículas variaram entre 50-92nm,

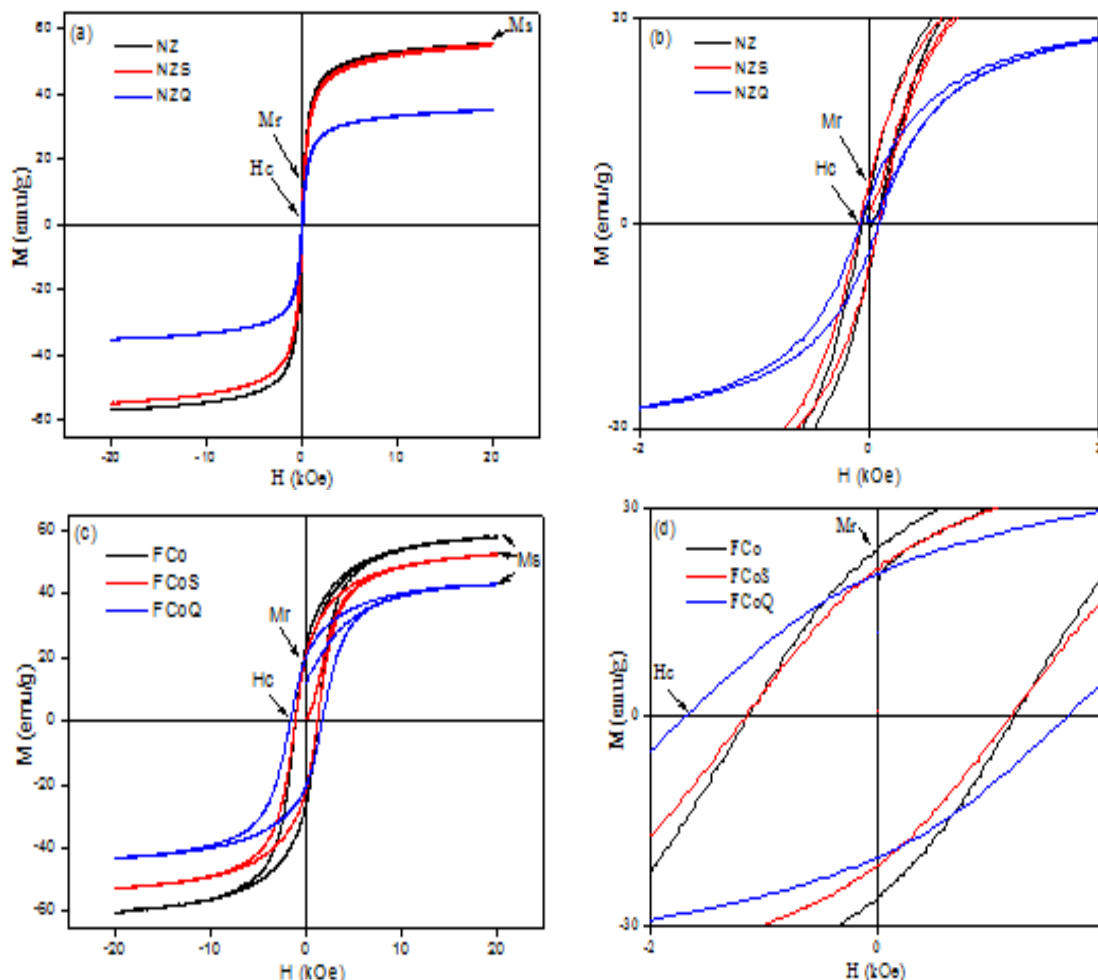
De maneira geral, observa-se que após as ferritas serem funcionalizadas com a quitosana os tamanhos das nanopartículas aumentaram, ou seja, com a presença do biopolímero as pequenas partículas tiveram tendência a se juntarem e ficarem aderidas em conjunto constituindo assim, aglomerados.

4.8 Caracterização Magnética

A Figura 18 ilustra o comportamento da magnetização (M) em função do campo magnético aplicado (H) por meio do laço de histerese para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 obtidas por reação de combustão, após silanização com o APTS e funcionalizadas com quitosana.

Mediante as curvas de histereses das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ como sintetizadas, silanizadas e funcionalizadas (Figuras 18a e 18b), de forma geral, observa-se ciclos $M \times H$ estreitos indicando, portanto, uma característica de um material magnético mole (em que se tem fácil magnetização e desmagnetização). Pode-se observar, que após a silanização, a magnetização de saturação (M_s) e a coercividade (H_c) mantiveram-se muito próximas da amostra como sintetizada, o que mostra que o silano não altera o comportamento magnético.

Figura 18 - Curvas de histerese M - H referentes às amostras das NPMs obtidas por reação de combustão, silanizadas com APTS e funcionalizadas com quitosana (a) $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$, (b) ampliação $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$, (c) CoFe_2O_4 e (d) ampliação CoFe_2O_4 .



Após a funcionalização com quitosana observou-se uma pequena redução na M_s , mas a curva permaneceu estreita e com praticamente o mesmo valor de H_c . Logo, pode-se dizer que a quitosana interferiu de forma significativa na magnetização da amostra, mas não mudou a característica de material magnético mole. Isto pode ser explicado, pelo fato da quitosana ser um material não magnético, criando uma barreira para o alinhamento dos spins no interior do domínio magnético. Comportamento semelhante a este foi reportado por Qu *et al.* (2013) quando estudaram a preparação, caracterização e citotoxicidade de nanopartículas Fe_3O_4 revestidas com quitosana e PEG.

Mediante as curvas de histereses das NPMs de CoFe_2O_4 como sintetizadas, silanizadas e funcionalizadas (Figura 18c e 18d), de forma geral, observa-se ciclos $M \times H$ bem definidos e relativamente largos, indicando o

comportamento de um material magnético intermediário (comportamento entre o material magnético mole e o material magnético duro). Pode-se observar que após a silanização e funcionalização ocorreu uma redução na magnetização de saturação, mas o formato da curva se manteve indicando que o material continuou com característica de material magnético intermediário. Nesta ferrita observou-se que a presença do silano e da quitosana na superfície das NPMs proporcionou uma forte desordem nas rotações dos spins, além do mais, por estes materiais não serem magnéticos, criando uma barreira para o alinhamento dos spins no interior do domínio magnético e desta forma é de se esperar uma redução na M_s com a presença dos mesmos associados as NPMs.

Quanto aos valores de H_c não verificou-se alterações significativas nas NPMs de CoFe_2O_4 com a presença do silano e da quitosana. Este mesmo comportamento observado nas NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 após silanização e funcionalização foi reportado por outros pesquisadores, como pode ser visto a seguir.

Nadeem *et al.* (2014) quando sintetizaram e estudaram nanopartículas de NiFe_2O_4 revestidas com SiO_2 , justificaram o efeito da redução da magnetização de saturação devido a uma desordem mais forte nos spins na superfície das nanopartículas com a presença de SiO_2 .

Wang *et al.* (2011) prepararam nanopartículas de CoFe_2O_4 monodispersas em SiO_2 , e em seguida, funcionalizaram com amino com a finalidade de imobilização de enzimas e observaram que a magnetização de saturação diminuiu após as NPMs serem funcionalizadas e atribuíram esse fato ao efeito da camada de revestimento com sílica amorfa sobre as NPMs.

Tang *et al.* (2012) quando estudaram o compósito $\text{Co}_{0,8}\text{Ni}_{0,2}\text{Fe}_2\text{O}_4/\text{PVP}$ usando o agente de acoplamento silano metacrilato de 3-(trimetoxissilil), reportaram que a magnetização de saturação observada para o compósito $\text{Co}_{0,8}\text{Ni}_{0,2}\text{Fe}_2\text{O}_4/\text{PVP}$ foi menor quando comparado com as NPMs de $\text{Co}_{0,8}\text{Ni}_{0,2}\text{Fe}_2\text{O}_4$. Essa redução na magnetização de saturação foi atribuída à presença do PVP, o qual não é magnético e influenciou a uniformidade ou magnitude da magnetização por extinguir o momento magnético da superfície.

Na Tabela 8 estão apresentados os parâmetros magnéticos (magnetização de saturação - M_s , magnetização remanente - M_r , campo

coercivo – H_c e perdas por histerese - W_b) obtidos por meio das curvas de histerese desses materiais.

Tabela 8 - Parâmetros magnéticos referentes às NPMs de $Ni_{0,5}Zn_{0,5}Fe_2O_4$ e $CoFe_2O_4$.

Amostras	M_s (emu/g)	M_r (emu/g)	H_c (kOe)	M_r/M_s	W_b (emu/g x kOe)
NZ	56	5,0	0,09	0,179	519,43
NZS	55	6,0	0,08	0,127	975,97
NZQ	35	4,0	0,09	0,114	619,32
Co	58	24,0	1,14	0,414	804,38
CoS	53	21,0	1,15	0,396	679,75
CoQ	46	20,6	1,70	0,447	486,01

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 8, verificou-se as NPMs de $Ni_{0,5}Zn_{0,5}Fe_2O_4$ e $CoFe_2O_4$ após silanização (NZS e CoS) resultaram em uma redução da magnetização de saturação (M_s) de 1,78% e 8,62%, quando comparada com as NPMs como sintetizada (NZ e Co), respectivamente. Após a funcionalização com a quitosana, observou-se também, uma redução na magnetização de saturação de 37,5% e 20,7%, respectivamente para as NPMs $Ni_{0,5}Zn_{0,5}Fe_2O_4$ e $CoFe_2O_4$, respectivamente.

Estes resultados estão em concordância com os resultados reportados por Sanjai et. al. (2014) quando observaram que após a adição de quitosana em nanopartículas de óxido de ferro, o valor da magnetização de saturação reduziu de 49 para 17 emu/g (aproximadamente 65% de redução), atribuindo isto, a redução do teor das nanopartículas e ao aumento do teor de quitosana na incorporação.

Com base nestes resultados, observa-se que para as NPMs em estudo, mesmo após a silanização com o APTS e funcionalização com quitosana, mantiveram suas características magnéticas, ou seja, as NPMs continuaram sendo fortemente atraídas pelo campo magnético, indicando, assim, a obtenção de um material híbrido com características magnéticas adequadas para uso em nanobiotecnologia.

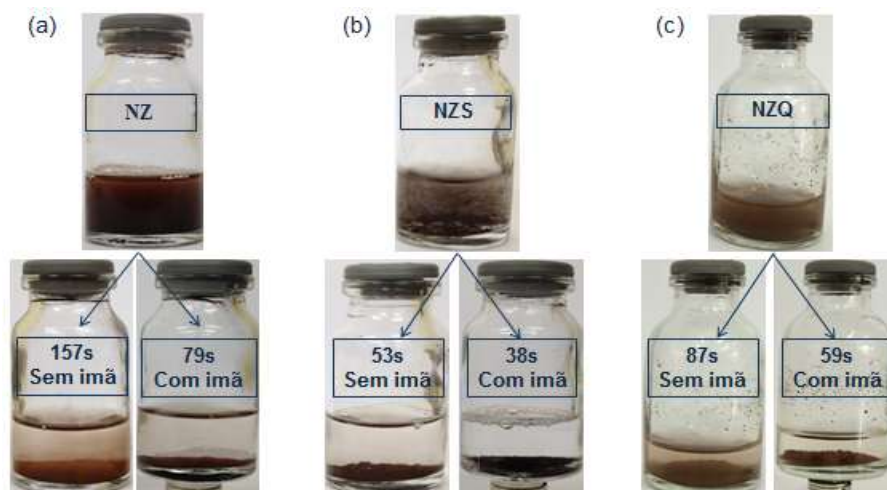
4.9 Teste Magnético *In Vitro*

4.9.1 Teste de Sedimentação

As Figuras 19 e 20 apresentam imagens para os resultados obtidos do teste *in vitro* de sedimentação magnética para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 .

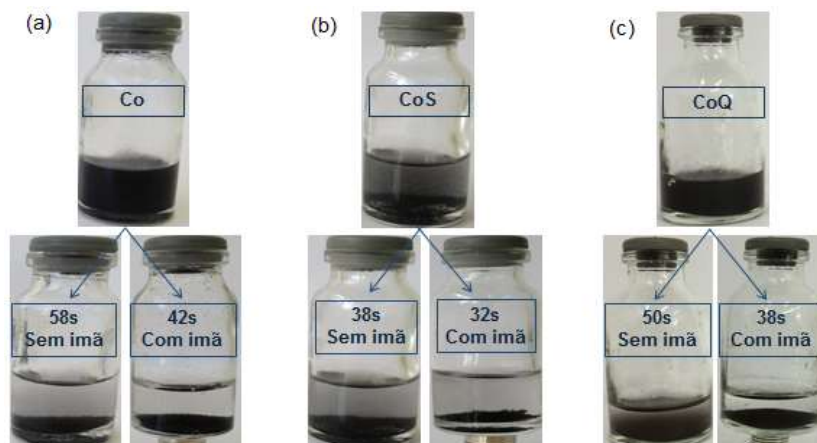
Para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ como sintetizadas (NZ) com a presença do ímã, observou-se que o tempo de sedimentação diminuiu de 157s para 79s. Para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ silanizadas com APTS (NZS), o tempo de sedimentação após a presença do ímã diminuiu de 53s para 38s. Para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ funcionalizadas com quitosana (NZQ) o tempo de sedimentação após a presença do ímã diminuiu de 87s para 59s. Desta forma, verifica-se que pelo comportamento magnético das NPMs $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$, suas partículas são fortemente atraídas pelo campo magnético induzido por ímã.

Figura 19 - Teste *in vitro* de sedimentação, sem e com a presença de um ímã, para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$: (a) NZ, (b) NZS e (c) NZQ.



Observou-se que estes materiais quando próximos a um ímã são fortemente atraídos podendo, ser facilmente removidos por atração magnética comprovando que após a adição do silano e da quitosana nas NPMs não interferiu na resposta magnética, exibindo uma alta sensibilidade magnética.

Figura 20 - Teste *in vitro* de sedimentação, sem e com a presença de um ímã, para as NPMs de CoFe_2O_4 : (a) Co, (b) CoS e (c) CoQ.



Comportamento semelhante foi apresentado pelas NPMs de CoFe_2O_4 como sintetizadas (Co), em que com a presença do ímã, o tempo de sedimentação diminuiu de 58s para 42s. Para as NPMs de CoFe_2O_4 silanizadas com o APTS (CoS) o tempo de sedimentação após a presença do ímã diminuiu de 38s para 32s. Para as NPMs de CoFe_2O_4 funcionalizada com quitosana (CoQ) o tempo de sedimentação após a presença do ímã diminuiu de 50s para 38s.

Após a silanização das NPMs (NZS e CoS) e funcionalização com a quitosana (NZQ e CoQ), estas sedimentaram mais rapidamente, com ou sem a presença do ímã, quando comparadas às amostras apenas sintetizadas (NZ e Co). Possivelmente, a atuação da força gravitacional após adição do silano e da quitosana nas NPMs seja mais acentuada, obtendo assim uma sedimentação mais rápida.

De forma geral, observou-se que as NPMs quando próxima a um ímã foi fortemente atraída, com isso, por exemplo, pode ser facilmente removida por atração magnética já que exibiram uma boa resposta ao ímã, e assim, comprovando a alta sensibilidade magnética destes materiais.

Para os resultados obtidos no teste de sedimentação para as NPMs de CoFe_2O_4 , observou-se que o tempo para sedimentação foi menor quando comparado com as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$. Logo, pode-se dizer que possivelmente este comportamento deve-se a maior magnetização de saturação apresentada pela NPMs de CoFe_2O_4 .

Teste de atração magnética por um campo magnético externo foi também reportado por Viswanathan (2011), quando estudou nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PVP}/\text{SiO}_2$ para promissoras aplicações em marcação celular, imobilização de enzimas, terapias contra o câncer, separação celular e agentes de contraste. Ele observou que na ausência de um magneto externo, a dispersão em que se encontravam as NPMs era homogênea e laranja brilhante, quando o ímã foi colocado ao lado do recipiente, as nanopartículas rapidamente eram atraídas e acumuladas próximo ao ímã, comportamento este semelhante ao observado nesta tese.

4.9.2 Teste de Separação

As Figuras 21 e 22 apresentam imagens para os resultados obtidos para o teste *in vitro* de separação magnética para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 .

Figura 21 - Teste *in vitro* de separação magnética das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$: (a) NZ, (b) NZS e (c) NZQ.

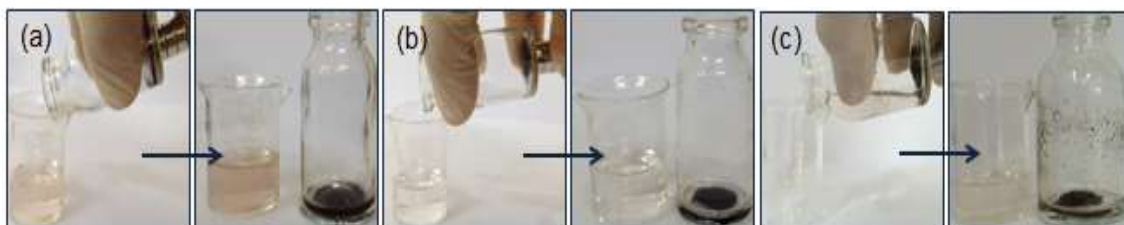


Figura 22 - Teste *in vitro* de separação magnética das NPMs de CoFe_2O_4 : (a) Co, (b) CoS e (c) CoQ.



Após a decantação das NPMs na solução de PBS acelerada com a presença do ímã observa-se que para as NPMs apenas sintetizadas (Figuras 21a e 22a), a sedimentação foi mais lenta, ficando ainda partículas dispersas

na solução, onde ao desprezar o líquido algumas dessas NPMs magnéticas são levadas juntas.

Para as NPMs após silanização e funcionalização com quitosana (Figuras 21b, 21c, 22b e 22c), a sedimentação foi mais rápida devido possivelmente a atuação da força gravitacional e assim, levando a decantação total. Após a separação do líquido das NPMs silanizadas, observou-se que poucas NPMs são desprezadas junto com o líquido. Observou-se também, que de forma geral, as NPMs podem ser facilmente separadas da atração por atração magnética. Numericamente, a eficiência de separação das NPMs em estudo está apresentada na Tabela 9.

De acordo, com os resultados apresentados na Tabela 9, verificou-se que as NPMs após silanização apresentaram maior eficiência de separação quando comparadas com as NPMs apenas sintetizadas, possivelmente tal comportamento se deve a presença do silano. Para as NPMs apenas sintetizadas (NZ e Co) restaram 0,013g e 0,009g de NPMs dispersas em solução, respectivamente. Para as NPMs após silanização (NZS e CoS) restaram 0,007g e 0,005g de NPMs dispersas na solução, respectivamente. Para as NPMs após funcionalização com quitosana (NZQ e CoQ) restaram 0,011g e 0,01g de NPMs dispersas na solução, respectivamente.

Tabela 9 - Eficiência de separação das NPMs em estudo.

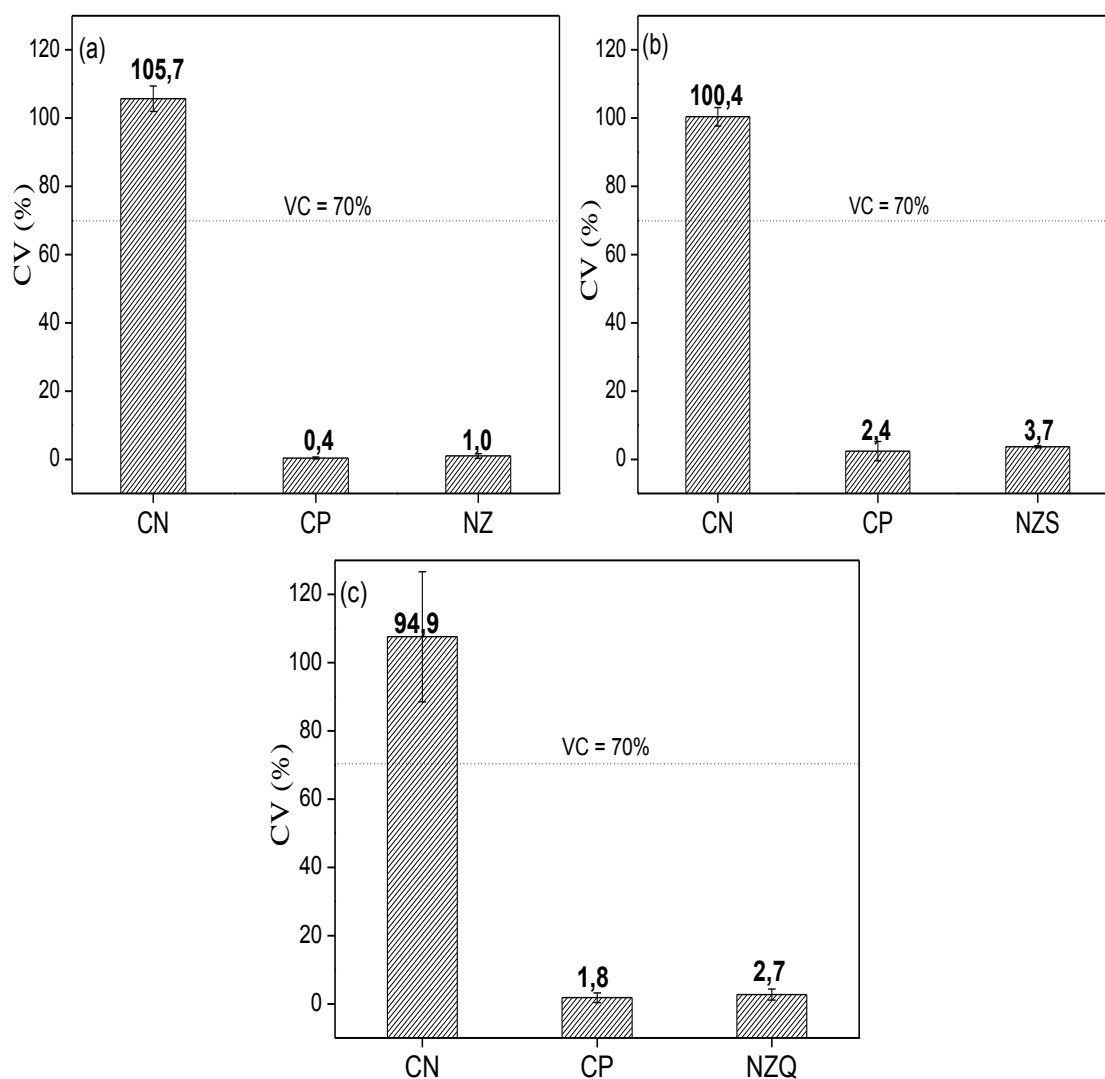
Amostras	Massa inicial (g)	Massa Final (g)	Eficiência de separação (%)
NZ	0,050	0,037	74
NZS	0,050	0,043	86
NZQ	0,050	0,039	78
Co	0,050	0,041	82
CoS	0,050	0,045	90
CoQ	0,050	0,040	80

A eficiência de separação foi de aproximadamente 78% para as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ funcionalizada com quitosana e de aproximadamente 80% para as NPMs de CoFe_2O_4 após funcionalização com quitosana.

4.10 Citotoxicidade

Na Figura 23 encontram-se os resultados percentuais da viabilidade das células de ovário de *hamster* chinês da linhagem CHO-K1 (ATCC CCL-61) na presença das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ como sintetizadas (NZ), após sinalização com o APTS (NZS) e funcionalizadas com quitosana (NZQ).

Figura 23 – Viabilidade de células de ovário de *hamster* na presença das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$: (a) NZ, (b) NZS e (c) NZQ.



Analisando os gráficos contidos na Figura 23, verifica-se que o material utilizado como controle negativo (CN) para citotoxicidade (PEAD – polietileno de alta densidade) apresentou uma viabilidade celular de 105,7%, 100,4% e 94,9%, enquanto que o material utilizado como controle positivo (CP) para citotoxicidade (látex) apresentou uma viabilidade celular de apenas 0,4%, 2,4%

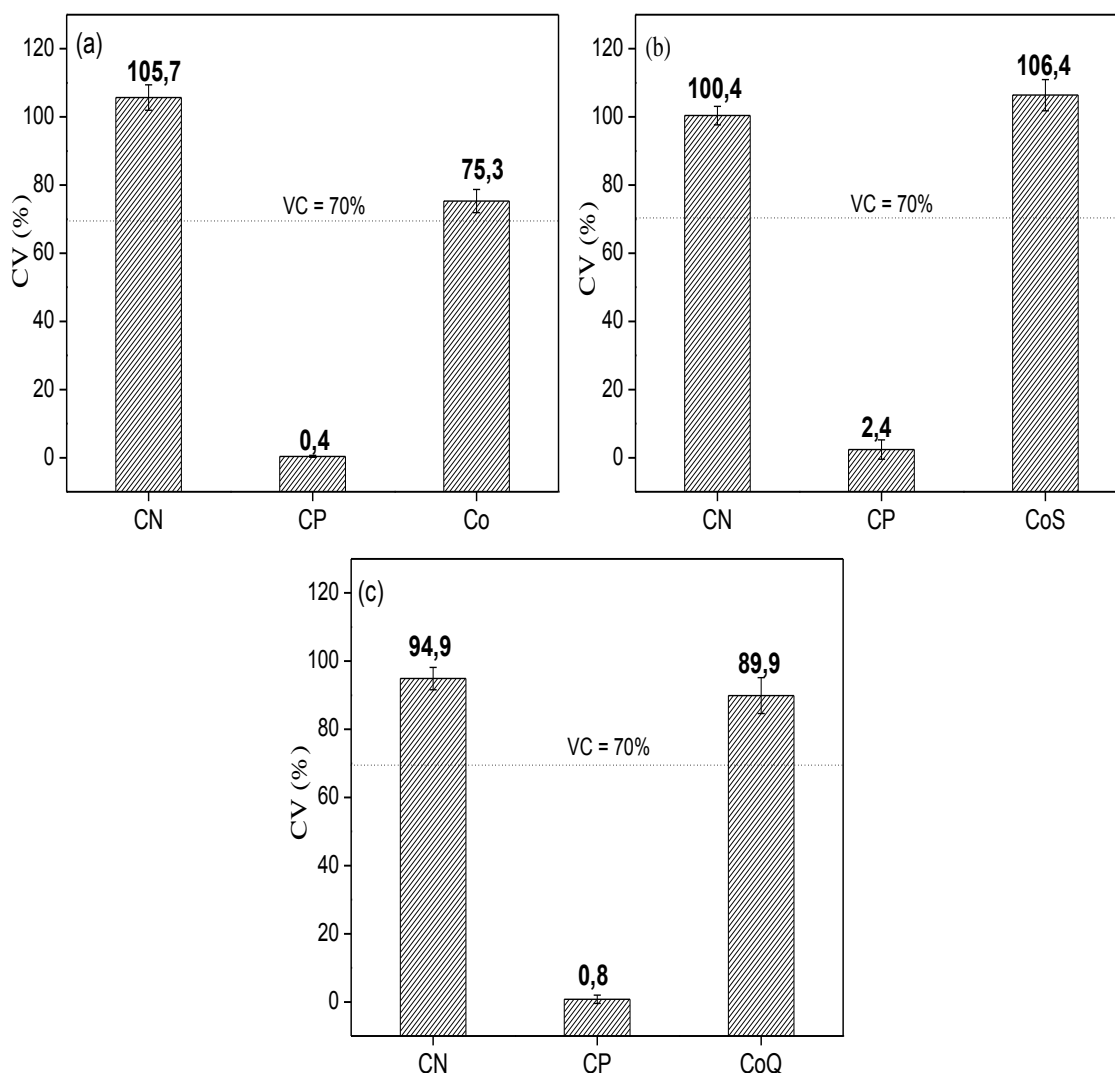
e 1,8%, respectivamente. Para as amostras NZ, NZS e NZQ a viabilidade celular foi de 1,0%, 3,7% e 2,7%, respectivamente. De acordo com a ISO 10993-5 os valores mínimos requeridos para que o material em contato com a célula não seja citotóxico é de até 70% de células viáveis, desta forma, as NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ como sintetizada (NZ), após sinalização com o APTS (NZS) e funcionalizada com quitosana (NZQ) não estão dentro deste limite e não podem ser considerados como biocompatíveis.

Na Figura 24 encontram-se os resultados percentuais da viabilidade das células de ovário de *hamster* chinês da linhagem CHO-K1 (ATCC CCL-61) na presença das NPMs de CoFe_2O_4 como sintetizadas (Co), após sinalização com o APTS (CoS) e funcionalizadas com quitosana (CoQ).

Analisando os gráficos contidos na Figura 24, observa-se que as amostras Co, CoS e CoQ apresentaram viabilidade celular de 75,3%, 106,4% e 89,9%, respectivamente. Assim, as NPMs CoFe_2O_4 como sintetizadas (Co), após sinalização com o APTS (CoS) e funcionalizadas com quitosana (CoQ) apresentaram viabilidade celular acima de 70%, logo, podem ser considerados como biocompatíveis.

Pode-se observar que apesar das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ serem tóxicas os processos de silanização com APTS e funcionalização com a quitosana favoreceram a um aumento da viabilidade celular das mesmas, podendo ainda apresentar potencial para aplicação *in vitro* em análise de diagnóstico, como por exemplo em detecção de glicose.

Figura 24 – Viabilidade de células de ovário de *hamster* na presença das NPMs de CoFe_2O_4 : (a) Co, (b) CoS e (c) CoQ.



Verifica-se que para as NPMs de CoFe_2O_4 como sintetizada, após silanização e funcionalizada com quitosana apresentaram-se como não citotóxica e com alta viabilidade celular, sendo estas promissoras para aplicações para tratamento biomédicos *in vivo*.

Ressalta-se que a não citotoxicidade e os valores de viabilidade celular das NPMs observadas neste trabalho de pesquisa corroboram com os resultados reportados por Shundo *et al.* (2012), cujos valores apresentados foram próximos a 100%, quando estudaram a evolução da citotoxicidade de nanopartículas de magnetita em presença de células tronco embrionárias de ratos.

4.11 Teste de Imobilização da GOx

A quantidade de GOx imobilizada e a eficiência de imobilização das NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 obtidas por reação de combustão, após silanização com o APTS e funcionalizadas com quitosana estão apresentadas na Tabela 10.

Tabela 10 - Quantidade e eficiência de GOx imobilizada.

Amostra	q (mg de GOx/ mg de NPMs)	Eficiência de imobilização (%)
NZ	0,528	2,69
NZS	0,499	2,54
NZQ	0,732	3,72
Co	0,907	4,61
CoS	0,790	4,02
CoQ	0,558	4,83

Analisando os resultados contidos na Tabela 10 observou-se que de maneira geral as NPMs após silanização (NZS e CoS), houve uma diminuição na eficiência de imobilização quando comparado as demais NPMs em estudo.

Verificou-se que com relação à imobilização da GOx as amostras após funcionalização (NZQ e CoQ) foram mais eficiente quando comparada com as demais NPMs em estudo. Estes resultados estão relacionados ao tipo de mecanismo que ocorre na imobilização, ou seja, para a amostra NZ, o mecanismo de imobilização é por adsorção física da GOx na superfície das NPMs, de forma a minimizar a tensão superficial existente nas NPMs. Porém este mecanismo é uma ligação fraca o que facilmente faz com que a GOx se desprenda da superfície das NPMs.

Por outro lado, no caso do híbrido o mecanismo ocorre por ligação covalente entre os grupos NH_2 e a GOx em que a GOx se mantém imobilizada com mais eficiência. Este mesmo mecanismo foi confirmado por Lee *et. al.*, 2012, quando estudaram NPMs de cobalto preparadas a partir de um núcleo revestido de sílica-concha utilizando o método de Stöber e amina-modificação

na superfície. A glicose-oxidase foi covalentemente imobilizada sobre a superfície de Co-B/SiO₂/NH₂.

Alguns autores estudaram a imobilização de enzimas com NPMs tais como: Huang et al., (2010) estudaram a imobilização da GOX utilizando Fe₃O₄ silanizada com TEOS e ativada com APTES + glutaraldeído (GA) e obtiveram 0,13 mg de GOx imobilizada por cada 1 mg NPMs ativadas, o que segundo estes autores reflete uma eficiência de 90% de imobilização das NPMs ativadas, sendo a imobilização realizada por ligação cruzada (*cross-linking*) entre a GOx e o GA; Zhou *et. al.*, (2012) realizaram imobilização de GOx usando óxido de grafeno, onde a eficiência de imobilização de GOx ativada foi de 75%, por meio da ligação covalente.

Observa-se que os resultados obtidos no presente trabalho quando comparado com os resultados de Huang et al., (2010) e Zhou *et. al.*, (2012) possuem eficiência de imobilização menor, porém os mesmos apresentam valores de imobilização de GOx que possibilita o material ser usado possivelmente em marcadores magnéticos. Os resultados obtidos são preliminares e precisam que em trabalhos futuros sejam reavaliados.

5 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que:

- ✓ A reprodutibilidade das NPMs em estudo pelo método de combustão foi eficaz, pois ambos os sistemas apresentaram comportamento de materiais magnéticos nanométricos, com a fase majoritária de interesse;
- ✓ Foi possível obter materiais híbridos $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2/\text{quitosana}$ e $\text{CoFe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2/\text{quitosana}$. A silanização e funcionalização das NPMs em estudo foram comprovadas pelas bandas características de ligações observadas por FTIR, pela maior perda de massa das cadeias orgânicas observadas na análise termogravimétrica e pela análise semiquantitativa do EDX. As presenças do silano e da quitosana não resultaram em fase secundária, não ocasionaram danos na microestrutura e não alteraram a estrutura das NPMs em estudo;
- ✓ Os híbridos obtidos neste trabalho de pesquisa utilizando quitosana como agentes funcionalizantes não alteraram significativamente as características morfológicas e estruturais das NPMs;
- ✓ Para ambos os sistemas em estudo, observou-se que a silanização e a adição do polímero quitosana não alteraram o magnetismo das NPMs, apenas ocasionaram uma redução na magnetização de saturação;
- ✓ As NPMs de $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ indicaram pela viabilidade celular serem citotóxicas, mas verificou-se que a silanização favoreceu a uma tendência no aumento da viabilidade celular das mesmas podendo apresentar potencial para futuros estudos para aplicação *in vitro* tais como imobilização de enzimas;
- ✓ As NPMs de CoFe_2O_4 como sintetizadas, após silanização e funcionalizadas com quitosana apresentaram-se como não citotóxica e com alta viabilidade celular, sendo estas promissoras para aplicações biológicas *in vivo* como por exemplo em aplicações terapêuticas e diagnósticas. Observou-se também que a silanização com APTS e funcionalização com quitosana favoreceram o aumento da viabilidade celular;

✓ As NPMs em estudo e os híbridos $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2/\text{quitosana}$ e $\text{CoFe}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2/\text{quitosana}$ possibilitaram a imobilização da glicose, verificou-se que o tipo de mecanismo de ligação entre a GOx e as NPMs, seja por adsorção física ou por ligação covalente alteram a eficiência da imobilização, são materiais imobilizadores de GOx e possuem grande potencial para o desenvolvimento de biossensores.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- ✓ Avaliar outros tipos de agentes silanos como também outros biopolímeros;
- ✓ Analisar diferentes concentrações do agente silano ou do agente funcionalizador;
- ✓ Avaliar outros sistemas de ferritas tais como Mn-Zn, ferrita de potássio, ferrita de cálcio, ferrita de níquel, ferrita de zinco, entre outras;
- ✓ Avaliar a imobilização de algumas enzimas tais como GOx e lipase;
- ✓ Testar os híbridos em estudo de aplicações para tratamentos biológicos *in vitro* e *in vivo*.

REFERÊNCIAS

- AIDER, M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. **LWT- Food Science and Technology**, v. 43, n.6, p.837-842, 2010.
- AIROLDI, C.; FARIAS, R. F. O uso de sílica gel organofuncionalizada como agente sequestrante para metais. **Química Nova**, 23 (4), p.496-503, 2000.
- AMIRI, S.; SHOKROLLAHI, H. The role of cobalt ferrite magnetic nanoparticles in medical science. **Materials Science and Engineering C** 33, 1–8, 2013.
- ARAÚJO, P. M. A. G. **Preparação e caracterização de filmes híbridos de quitosana a partir do $ZnAl_2O_4$ E $ZnAl_{1,9}Eu_{0,05}O_4$ visando aplicação na biomedicina**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais), Universidade Federal de Campina Grande, 113p. Campina Grande, 2013.
- ASLAM, M.; FU, L.; LI, S.; DRAVID, V.P. Silica encapsulation and magnetic properties of FePt nanoparticles. **Journal Colloid Interface Science**, 290, 444–449, 2005.
- AZÁROFF, L. V. X-ray diffraction studies of crystal perfection. **Progress in Solid State Chemistry**, v. 1, p. 347-379, 1964.
- AZEVEDO, C. B.; SOUZA, E. A.; FARIA, E. H.; ROCHA., L. A.; CALEFI, P. S.; CIUFFI, K. J.; NASSAR, E. J. Optical properties of eu-doped hybrid materials prepared from dimethyl and methyl alkoxides precursors. **Journal of Luminescence**, 2013.
- BALAVIJAYALAKSHMI, J.; SURIYANARAYANAN, N.; JAYAPRAKASH, R. Effects of sintering on structural and magnetic properties of Cu substituted cobalt – nickel mixed ferrite nano particles. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 362,135–140, 2014.
- BAÑULS, M. J., GONZÁLEZ-PEDRO, V., BARRIOS, C. A., PUCHADES, R., MAQUIEIRA, Á. Selective chemical modification of silicon nitride/silicon oxide nanostructures to develop label-free biosensors. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 25, p. 1460–1466, 2010.
- BARBUCCI, R.; GIANI, G.; FEDI, S.; BOTTARI, S.; CASOLARO, M. Biohydrogels with magnetic nanoparticles as crosslinker: Characteristics and potential use for controlled antitumor drug-delivery. **Acta Biomaterialia**, 8, 4244–4252, 2012.
- BEDÊ, P. M. **Produção e caracterização de nanopartículas polimérico-magnéticas para aplicações biomédicas**. Dissertação (Curso de Mestrado em Ciências dos Materiais), Instituto Militar de Engenharia. Rio de Janeiro, 2010.

BENVENUTTI, E. V.; FOSCHIERA, J. L.; PIZZOLATO, T. M. FTIR Thermal Analysis on Organofunctionalized Silica Gel. **Journal Brazilian Chemical Society**, v.12, n.2, p.159-164, 2001.

BHATTACHARYA, D.; BAKSI, A.; BANERJEE, I.; ANANTHAKRISHNAN, R.; MAITI, T. K.; PRAMANIK, P. Development of phosphonate modified $\text{Fe}_{(1-x)}\text{Mn}_x\text{Fe}_2\text{O}_4$ mixed ferrite nanoparticles: Novel peroxidase mimetics in enzyme linked immunosorbent assay. **Talanta**, 86, 337– 348, 2011.

BLANCO, E.; HSIAO, A.; MANN, A. P.; LANDRY, M. G.; MERIC-BERNSTAM, F.; FERRARI, M. Nanomedicine in cancer therapy: Innovative trends and prospects. **Cancer Science**, 102, 1247, 2011.

BOCA, S. C.; POTARA, M.; TODERAS, F.; STEPHAN, O.; BALDECK, P. L.; ASTILEAN, S. Uptake and biological effects of chitosan-capped gold nanoparticles on Chinese Hamster Ovary cells. **Materials Science and Engineering C**, v. 31 p.184–189, 2011.

BONGERS, P. F.; STUYTS, A.; GROENOU, A. B. V. Magnetism, Microstructure and Crystal Chemistry of Spinel Ferrites. **Materials Science and Engineering**. v. 3, p. 19-331, 1968.

BORDOLOI, A.; MATHEW, N. T.; LEFEBVRE, F.; HALLIGUDI, S.B. Inorganic–organic hybrid materials based on functionalized silica and carbon: A comprehensive understanding toward the structural property and catalytic activity difference over mesoporous silica and carbon supports. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 115, p. 345–355, 2008.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–254, 1976.

BUENO, A. R. **Síntese e caracterização da ferrita de Ni-Zn dopada com íons metálicos para aplicações em absorvedores de radiações eletromagnéticas**, Tese (Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa de Engenharia), COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, 164p., 2003.

BUENO, A. R.; GOMES, L. C. F. L.; NOBREGA, M. C. S. **Anais do 41º Congresso Brasileiro de Cerâmica**, São Paulo-SP, v.1, p. 135-138, 1997.

CAHN, R. W.; HAASEN, P.; KRAMER, E. J. Structure and Properties of Ceramics. **Materials Science and Technology – A Comprehensive Treatment**. Editor: Michael V. Swain, 11, p. 625, 1993.

CAI, N.; ZHAI, J.; NAN, C.W.; LIN, Y.; SHI, Z. Dielectric, ferroelectric, magnetic, and magnetoelectric properties of multiferroic laminated composites. **Physical Review B**, 68, 2003.

CASTRO, V. F.; CELESTINO, J.; QUEIROZ, A. A. A.; GARCIA, F. G. Propriedades magnéticas e biocompatíveis de nanocompósitos para utilização em magneto-hipertermia. **Revista Brasileira de Física Médica**, 4, p.79-82, 2010.

CHALKIDOU, A.; SIMEONIDIS, K.; ANGELAKERIS, M.; SAMARAS, T.; MARTINEZ-BOUBETA, C.; BALCELLS, L.; PAPAISIS, K.; DENDRINOU-SAMARA, C.; KALOGIROU, O. In vitro application of Fe/MgO nanoparticles as magnetically mediated hyperthermia agents for cancer treatment. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, 323, 775–780, 2011.

CHANDRA, S.; BARICK, K. C.; BAHADUR, D. Oxide and Hybrid Nanostructures for Therapeutic Applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.63, p.1267-1281, 2011.

CHAUGHULE R.S.; PURUSHOTHAM S.; RAMANUJAN R. V. Magnetic Nanoparticles as Contrast Agents for Magnetic Resonance Imaging, Proceedings of the National Academy of Sciences, India. Section A. **Physical Sciences**, 82, 257-268, 2012.

CHEN, X.; HOU, C.; ZHANG, Q.; LI, Y.; WANG, H. One-step synthesis of Co–Ni ferrite/graphene nanocomposites with controllable magnetic and electrical properties. **Materials Science and Engineering B**, 177, 1067–1072, 2012.

COSTA, A. C. F. M. **Síntese por reação de combustão, sinterização e caracterização de ferrita Ni-Zn**. Tese (Programa de Pós-graduação em Ciências e Engenharia de Materiais). Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2002.

COSTA, A. C. F. M.; KIMINAMI, R. H. G. A. Dispositivo para produção de nanomateriais cerâmicos em larga escala por reação de combustão e processo contínuo de produção dos nanomateriais. Depósito de patente. **Revista de Propriedade Industrial – RPI**, depositada em 25/01/2012, recebendo o nº BR 10 2012 002181-3.

COSTA, A. C. F. M.; MORELLI, M. R.; KIMINAMI, R. H. G. A. Microestrutura e propriedades magnéticas de ferritas Ni-Zn-Sm. **Cerâmica**, 49, p. 168-173, 2003.

COVALIU, C. I.; JITARU, I.; PARASCHIV, G.; VASILE, E.; BIRIȘ, S.; DIAMANDESCU, L.; IONITA, V.; IOVU, H. Core–shell hybrid nanomaterials based on CoFe₂O₄ particles coated with PVP or PEG biopolymers for applications in biomedicine. **Powder Technology**, 415–426, 2013.

CRUZ, C. J. D. **Síntese bottom up de nanopartículas magnéticas core-shell do tipo γ -Fe₂O₃@CoFe₂O₄ visando aplicações em magneto-hipertermia**. Dissertação em Ciência de Materiais da Universidade de Brasília. 69 p. Brasília, 2013.

CULLITY, B. D. **Introduction to magnetic materials**. Addison Wesley Publishing Company, 1972.

DALT S. D.; PANTA P. C.; TONIOLO J. C.; Nanomagnetic Materials. In: Bergmann CP, Andrade (Org.). **Nanostructured Materials for Engineering Applications**. 1- ed. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, (1) 23-39, 2011.

- DANTAS, J. **Síntese e avaliação do desempenho de catalisadores a base de ferritas Ni-Zn dopada com cobre na reação de transesterificação de óleo vegetal em biodiesel**. Dissertação em Ciências e Engenharia de Materiais pela Universidade Federal de Campina Grande, 108 p., Campina Grande, 2012.
- DIAZ-BENITO, B.; VELASCO, F.; MARTINEZ, F. J.; ENCINAS, N. Hydrolysis study of bis-1,2-(triethoxysilyl)ethane silane by NMR. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v.369, n.(1-3), p.53-56, 2010.
- DODI, G.; HRITCU, D.; LISA, G.; POPA, M.I. Core-shell magnetic chitosan particles functionalized by grafting: Synthesis and characterization. **Chemical Engineering Journal**, v.203, p.130–141, 2012.
- DURAN, J. D. G.; ARIAS, J. L.; GALLARDO, V.; DELGADO, A. V. Magnetic colloids as drug vehicles. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.97, p. 2948–2983, 2008.
- FAIRWEATHER, A.; ROBERTS, F. F.; WELCH, A. J. E. Ferrites, Reports on **Progress in Physics** 15, p.142, 1952.
- FARAJI M.; YAMINI Y.; REZAEI M. Magnetic Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Functionalization, Characterization and Applications. **Journal of the Iranian Chemical Society**, 7(1):1-37, 2010.
- FIDÉLES, T. B. **Filmes reticulados de quitosana para aplicação como biomaterial**. 2010. 92f. Dissertação (Mestrado) - Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2010.
- FIGUEIREDO, J. **Nanomedicina: ficção ou realidade**. Disponível em: <http://w3.ualg.pt/~jlongras/Nanomedicina-ficcao-ou-realidade.pdf> Acesso em: Abril de 2013.
- FIGUEROLA, A.; DI CORATO, R.; MANNA, L.; PELLEGRINO, T. From iron oxide nanoparticles towards advanced iron-based inorganic materials designed for biomedical applications. **Pharmacological Research**, 62 p. 126–143, 2010.
- FUCHS, A.; COMBELLAS, C.; SHANAHAN, M. E. R. Wetting and surface properties of modified fluoro-silanised glass, **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 307 , p.7-15, 2007.
- FURTADO, C. M. **Efeito da funcionalização com quitosana e glutaraldeído para obtenção de materiais híbridos a partir do $\text{ZnAl}_{1,95}(\text{Yb:Er})_{0,05}\text{O}_4$** . Tese em Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande-PB, em cumprimento às Campina Grande-PB, 108 p., 2013.
- GE, F.; LI, M. M.; YE, H.; ZHAO, B. X. Effective removal of heavy metal ions Cd^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} from aqueous solution by polymer-modified magnetic nanoparticles, **Journal of Hazardous Materials**, 211–212, 366–372, 2012.
- GOLDMAN, A. Magnetic ceramics (Ferrites). In: ENGINEERED material handbook. **Metal Park: ASM International**, 4, p. 1161-1165, 1991.

GOMEZ-ROMERO, P. Hybrid organic-inorganic materials - In search of synergic activity. **Advanced Materials**, 13 (3), p. 163-174, 2001.

GONSALVES, A. A.; ARAÚJO, C. R. M.; SOARES, N. A.; GOULART, M. O. F.; ABREU, F. C. Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p.1215-1223, 2011.

GONZALEZ-FERNANDEZ, M. A.; TORRES, T.E.; ANDRÉS-VERGÉS, M.; COSTO, R.; PRESA, P.; SERNA,C.J.; MORALES, M. P.; MARQUINA, C.; IBARRA, M. R.; GOYA, G.F. Magnetic nanoparticles for power absorption: optimizing size, shape and magnetic properties. **Journal Solid State Chem.** 182, 2779–2784, 2009.

GRUMEZESCU, A. M.; ANDRONESCU, E.; HOLBAN, A. M.; FICAI, A.; FICAI, D.; VOICU, G.; GRUMEZESCU, V.; BALAURE, P. C.; CHIFIRIUC, C. M. Water dispersible cross-linked magnetic chitosan beads for increasing the antimicrobial efficiency of aminoglycoside antibiotics. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 454, p. 233– 240, 2013.

GUBBALA, S.; NATHANI, H.; KOIZOL, K.; MISRA, R.D.K. Magnetic properties of nanocrystalline Ni–Zn, Zn–Mn, and Ni–Mn ferrites synthesized by reverse micelle technique. **Physica B**, v. 348, p.317–328, 2004.

HAO, R.; XING, R.J.; XU, Z.C.; HOU, Y.L.; GAO, S.; SUN, S.H. Synthesis, functionalization, and biomedical applications of multifunctional magnetic nanoparticles. **Advanced Materials**, v. 22, p.2729–2742, 2010.

HEINTZ, E. L. H. **Surface biological modification and cellular interactions of magnetic spinel ferrite nanoparticles**. Tese – Georgia Institute Technology, Georgia, 2004.

HENDERSON, C. M. B.; CHARNOCK, J. M.; PLANT, D. A. Cation Occupancies in Mg, Co, Ni, Zn, Al ferrite spinels: a multi-element EXAFS study. **Journal of Physics: Condensed Matter**, 19, p. 25, 2007.

HOLM, C.; WEIS, J. J. The structure of ferrofluids: A status report. **Current Opinion in Colloid &Interface Science**, 10, p. 133-140, 2005.

HORK, D.; RITTICH, B.; SPANOV, A.; HORA'K, D.; SPANOVA', A. Carboxyl-functionalized magnetic microparticle carrier for isolation and identification of DNA in dairy products. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 311, p. 249–254, 2007.

HORNAK, J.P., 2010. **The basics of MRI**. <http://www.cis.rit.edu/htbooks/mri/>. Acesso em 30 de nov. 2011.

HU, S. H.; CHEN, S. Y.; LIU, D. M.; HSIAO, C.S. Core/single-crystal-shell nanospheres for controlled drug release via a magnetically triggered rupturing mechanism. **Advanced Materials**, v. 20, p. 2690–2695, 2008b.

HU, S.H.; LIU, T.Y.; HUANG, H.Y.; LIU, D.M.; CHEN, S.Y. Magnetic-sensitive silica nanospheres for controlled drug release, **Langmuir** v. 24, p. 239–244, 2008a.

HUANG, J.; ZHAO, R.; WANG, H.; ZHAO, W. Q.; DING, L. Y. Immobilization of glucose oxidase on $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ magnetic nanoparticles. **Biotechnology Letters**, v. 32, p. 817, 2010.

ICHIYANAGI, Y.; MORITAKE, S.; TAIRA, S.; SETOU, M. Functional magnetic nanoparticles for medical application. **Journal Magnetismo and Magnetic Materials**, v. 310, p. 2877–2879, 2007.

ISO 10993-12 – **Biological Evaluation of Medical Devices** – part 12: Sample preparation and reference materials. 13p. 2007. Disponível em: https://marketplace.aami.org/eseries/scriptcontent/docs/Preview%20Files%5C10993-12_preview.pdf

ISO 10993-5 – **Biological Evaluation of Medical Devices** – part 5 - Tests for in vitro cytotoxicity. 38p. 2013. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/UCM348890.pdf>

JAIN, S. R.; ADIGA, K. C.; PAI VERNEKER, V. A new approach to thermo chemical calculations of condensed fuel-oxidizer mixture Combustion. **Flame**, v. 40, p. 71-79, 1981.

JAYAKUMAR, R.; PRABAHARAN, M.; KUMAR, S. P.T.; NAIR, S. V.; TAMURA, H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. **Biotechnology Advances**, v. 29, p. 322-337, 2011.

JIANG, C.; LIU, R.; SHEN, X.; ZHU, L.; SONG, F. $\text{Ni}_{0.5}\text{Zn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ nanoparticles and their magnetic properties and adsorption of bovine serum albumin. **Powder Technology**, v. 211, p. 90–94, 2011.

JOSIK, P., JIN-HO, C. M. A., Subramanian, inorganic–organic-hybrids as precursors to functional materials. **International Journal of Inorganic Materials**, v. 3, p. 581, 2001.

KANIMOZHI, S.; PERINBAM, K. Synthesis of amino-silane modified superparamagnetic Fe_3O_4 nanoparticles and its application in immobilization of lipase from *Pseudomonas fluorescens* Lp1. **Materials Research Bulletin**, v. 48, p. 1830-1836, 2013.

KEY, J.; COOPER, C.; KIM, A. Y.; DHAWAN, D.; KNAPP, D. W. In vivo NIRF and MR dual-modality imaging using glycol chitosan nanoparticles. **Journal of Controlled Release**, v.163, 249–255, 2012.

KHANDEKAR, M. S.; KAMBALE, R. C.; PATIL, J. Y.; KOLEKAR, Y. D.; SURYAVANSHI, S. S. Effect of calcination temperature on the structural and electrical properties of cobalt ferrite synthesized by combustion method. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 509, p.1861–1865, 2011.

KHANNA, L.; VERMA, N.K. Silica/potassium ferrite nanocomposite: Structural, morphological, magnetic, thermal and in vitro cytotoxicity analysis. **Materials Science and Engineering B**, v. 178, p. 1230–1239, 2013.

KNOBEL, M.; GOYA, G. F. Ferramentas magnéticas na escala do átomo. **Scientific American Brasil**, p. 58-66, 2004.

KOOTI, M.; AFSHARI, M. Phosphotungstic acid supported on magnetic nanoparticles as an efficient reusable catalyst for epoxidation of alkenes. **Materials Research Bulletin**, v. 47, 3473–3478, 2012.

KOOTI, M.; GHARINEH, S.; MEHRKHAH, M.; SHAKER, A.; MOTAMEDI, H. Preparation and antibacterial activity of $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{Ag}$ composite impregnated with streptomycin. **Chemical Engineering Journal**, 259, 34–42, 2015.

KRANZ, C.; EATON, D. C.; MIZAIKOFF, B. Analytical challenges in nanomedicine. **Anal Bioanal Chem**, 399, 2309–2311, 2011.

KURAYAMA, F.; SUZUKI, S.; OYAMADA, T.; FURUSAWA, T.; SATO, M.; SUZUKI, N. Facile method for preparing organic/inorganic hybrid capsules using amino functional silane coupling agent in aqueous media. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 349, p.70–76, 2010.

LACAVA, Z. G. M.; MORAIS, P. C. Universia Brasil – **Aplicações biomédicas de nanopartículas magnéticas**. 2004. Disponível em <http://www.universia.com.br/html/materia/materia_fcif.html> 7 p. Acesso em 16 de Nov. 2011.

LANDFESTER, K.; RAMIREZ, L. P. Encapsulated magnetite particles for biomedical application. **Journal of Physics-Condensed Matter**, v.15, p.1345-1361, 2003.

LEE, H. U.; PARK, C.; KIM, S. W. Immobilization of glucose oxidase onto cobalt based on silica core/shell nanoparticles as carrier. **Process Biochemistry**, v. 47, p.1282–1286, 2012.

LEONEL, L. V. **Síntese e Caracterização de compósitos titanato de bário-ferrita de cobalto preparados a partir de método sol-gel**. Tese em Ciências-Química, 130 p. Belo Horizonte, 2010.

LI, Y.; JIN, Z.; LI, T.; XIU, Z. One-step synthesis and characterization of core-shell $\text{Fe}@\text{SiO}_2$ nanocomposite for Cr (VI) reduction. **Science of the Total Environment**, v. 421-422, p. 260–266, 2012.

LIMA, R. C. **Propriedades absorvedoras de microondas de compostos epoxidicos de Y-hexaferritas de bário obtidas pelo método de combustão do gel de citrato**. Tese Engenharia Metalúrgica e de Materiais, COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, 180p., 2007.

LIU, R.; SHEN, X.; JIANG, C.; SONG, F.; LI, H. Preparation of $\text{Ni}_{0.5}\text{Zn}_{0.5}\text{Fe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2$ nanocomposites and their adsorption of bovine serum albumin. **Journal of Alloys and Compounds**, 511, 163–168, 2012.

LIU, T. Y.; HU, S. H.; LIU, K. H.; SHAIU, R. S.; LIU, D. M.; CHEN, S.Y. Instantaneous drug delivery of magnetic/thermally sensitive nanospheres by a high-frequency magnetic field. **Langmuir**, v. 24, p.13306–13311, 2008.

LIU, Y.; YANG, K.; CHENG, L.; ZHU, J.; MA, X.; XU, H.; LI, Y.; GUO, L.; GU, H.; LIU, Z. PEGylated $\text{FePt}@\text{Fe}_2\text{O}_3$ core-shell magnetic nanoparticles: Potential theranostic applications and in vivo toxicity studies. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, 9, 1077–1088, 2013.

LUNG, C. Y. K.; MATINLINNA, J. P. Aspects of silane coupling agents and surface conditioning in dentistry: An overview. **Dental Materials**, v. 28, p. 467 – 477, 2012.

MADHUMATHI, K.; SHALUMON, K. T.; RANI, V. V. D.; TAMURA, H., FURUIKE, T.; SELVAMURUGAN, N.; NAIR, S. V.; JAYAKUMAR, R. Wet chemical synthesis of chitosan hydrogel–hydroxyapatite composite membranes for tissue engineering applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.45, p.12–15, 2009.

MAO, X.; HU, B.; HE, M.; CHEN, B. High polar organic–inorganic hybrid coating stir bar sorptive extraction combined with high performance liquid chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry for the speciation of seleno-amino acids and seleno-oligopeptides in biological samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1256 p.32–39, 2012.

MARCUA, A.; POPB, S.; DUMITRACHEA, F.; MOCANUB, M.; NICULITEB, C. M.; GHERGHICEANUB, M. Magnetic iron oxide nanoparticles as drug delivery system in breast cancer. **Applied Surface Science**, v. 281, p.60–65 2013.

MCCARTHY, J. R.; BHAUMIK, J.; KARVER, M. R.; ERDEM, S. S.; WEISSLEDER, R. Targeted nanoagents for the detection of cancers. **Molecular Oncology**, v. 4, p. 51-52 8, 2010.

MCELWEE, J.; HELMY, R.; FADEEV, A.Y. Thermal stability of organic monolayers chemically grafted to minerals. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 285, p.551, 2005.

MELO, F. M. A. **Preparação e caracterização de nanocompósitos quitosana/bentonita**. Dissertação (Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais), Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 53p., 2010.

MING, Z.; XIANQING, Z.; SEN, W.; CHAO, C.; YALI, C. A simple method for purification of genomic DNA from whole blood using $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Au}$ composite particles as a carrier. **Journal of Medical Colleges of PLA**, v. 24, n. 4, p. 239-243, 2009.

MITZI, D. B. Thin-film deposition of organic-inorganic hybrid materials. **Chemistry of Materials**, v. 13 (10), p. 3283-3298, 2001.

MOHAPATRA S. R.; MAITI S.; MAITI T. K.; PANDA A. B. Monodisperse mesoporous cobalt ferrite nanoparticles: synthesis and application in targeted delivery of antitumor drugs. **Journal Mater. Chem.** 21:9185–9193, 2011.

NADEEM, K.; KRENN, H.; SARWAR, W.; MUMTAZ, M. Comparison of surface effects in SiO₂ coated and uncoated nickel ferrite nanoparticles. **Applied Surface Science**, v. 288, p. 677– 681, 2014.

NAM, J. H.; JOO, Y. H.; LEE, J. H.; CHANG, J. H.; CHO, J. H. Preparation of NiZn ferrite nanofibers by electrospinning for DNA separation. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 321, p. 1389–1392, 2009.

NAM, J.; WON, N.; BANG, J.; JIN, HO.; PARK, J.; JUNG, S.; JUNG, S.; PARK, Y.; KIM, S. Surface engineering of inorganic nanoparticles for imaging and therapy. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2012, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2012.08.015>.

NIDHIN, M.; SREERAM, K. J.; NAIR, B. U. Polysaccharide films as templates in the synthesis of hematite nanostructures with special properties. **Applied Surface Science**, v. 258, p.5179– 5184, 2012.

NOVOTNA, B.; JENDELOVA, P.; KAPCALOVA, M.; ROSSNER JR. P.; TURNOVCOVA, K.; BAGRYANTSEVA, Y.; BABIC, M.; HORAK, D.; SYKOVA, E. Oxidative damage to biological macromolecules in human bone marrow mesenchymal stromal cells labeled with various types of iron oxide nanoparticles. **Toxicology Letters**, v. 210, p. 53–63, 2012.

OSÓRIO, S. M. L. **Novel polymeric systems based on natural materials: development and biological performance**. Dissertação, Universidade do Minho, Escola de Engenharia, Braga, 161p., 2007.

OSTER, J.; PARKER, J.; BRASSARD, L. Polyvinyl-alcohol based magnetic beads for rapid and efficient separation of specific or unspecific nucleic acid sequences. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 225, p. 145-150, 2001.

PANKHURST, Q. A.; CONNOLLY, J.; JONES, S. K.; DOBSON, J. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 36, p. 167-181, 2003.

PAULL, R.; WOLFE, J.; HÉBERT, P.; SINKULA, M. Investing in nanotechnology. **Nature Publishing Group**, v. 21, (10), p.1144-1147, 2003.

PETER, M.; BINULAL, N. S.; SOUMYA, S.; NAIR, S. V.; FURUIKE, T.; TAMURA, H.; JAYAKUMAR, R. Nanocomposite scaffolds of bioactive glass ceramic nanoparticles disseminated chitosan matrix for tissue engineering applications. **Carbohydrate Polymers**, v.79, n. 2, p. 284-289, 2010.

PHADATARE, M. R.; KHOT, V. M.; SALUNKHE, A. B.; THORAT, N. D.; PAWAR, S. H. Studies on polyethylene glycol coating on NiFe_2O_4 nanoparticles for biomedical applications. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v.324, p.770–772, 2012.

PINHO, L. C. A. B. **Materiais Ferromagnéticos e suas Aplicações**. Dissertação em Engenharia Electrotécnica e de Computadores. 83 p. Portugal, 2009.

PON-ON, W.; CHAROENPHANDHU, N.; TANG, I.; JONGWATTANAPISAN, P.; KRISHNAMRA, N.; HOONSAWAT, R. Encapsulation of magnetic CoFe_2O_4 in SiO_2 nanocomposites using hydroxyapatite as templates: A drug delivery system. **Materials Chemistry and Physics**, v.131, p.485–494, 2011.

POOJA, G., Magnetic Nanoparticles Enhance Medical Imaging, **The Journal of Young Investigators**, v.15 (2), 2006.

PRASAD, K.N.; RATHINASAMY, K.; PANDA, D.; BAHADUR, D. Mechanism of cell death induced by magnetic hyperthermia with nanoparticles of $\gamma\text{-Mn}_x\text{Fe}_{2-x}\text{O}_3$ synthesized by a single step process. **Journal of Materials Chemistry**, v.17, p.5042–5051, 2007.

PRODELALOVA, J.; RITTICH, B.; SPANOVA, A.; PETROVA, K.; BENES, M. J. Isolation of genomic DNA using magnetic cobalt ferrite and silica particles. **Journal of Chromatography A**, v.1056, p.43–48, 2004.

QU, J. B.; SHAO, H. H.; JING, G. L.; HUANG, F. PEG-chitosan-coated ironoxide nanoparticles with high saturated magnetization as carriers of 10-hydroxycamptothecin: Preparation, characterization and cytotoxicity studies. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.102, p.37–44, 2013.

RANE, K. S.; VERENKAR, V. M. S.; SAWANT, P. Y. Hidrazine method of synthesis of Fe_2O_3 useful in ferrites preparation. **Journal of Materials Science Materials Eletronics**, 10, p. 133-140, 1999.

REIS, A. B. **Processo de revestimento à base de quitosana em papel Kraft: propriedades mecânica de barreira e Biodegradabilidade**. Tese, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 240p., 2010.

REZENDE, S. M. **A física de materiais e dispositivos eletrônicos**. Recife: Editora da Universidade Federal de Pernambuco, 1996.

REZENDE, S. M. **Materiais e Dispositivos Magnéticos**. São Paulo: Editora Livraria da Física, 2ª Edição, 2004.

RIBEIRO, T. G. D. **Síntese e Caracterização de nano partículas magnéticas de óxidos mistos de MnFe_2O_4 recobertas com quitosana, estudo da influência da dopagem com Ga^{3+} nas propriedades estrutuais e magnéticas**. Dissertação de Mestrado. IPEM. 2008.

ROBERT, C. O. **Modern Magnetic Materials-Principles and Applications**. Ed. A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, INC., New York, p. 129-130, 1942.

SAGNELLA, S.; MAI-NGAM, K. Chitosan based surfactant polymers designed to improve blood compatibility on biomaterials. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.42, n.2, p.147-155, 2005.

SAHOO, B.; DEVI, K. S. P.; DUTTA, S.; MAITI, T. K.; PRAMANIK, P.; DHARA, D. Biocompatible mesoporous silica-coated superparamagnetic manganese ferrite nanoparticles for targeted drug delivery and MR imaging applications. **Journal of Colloid and Interface Science**, 431, 31–41, 2014.

SAKAMOTO, J. H.; VEN, A. L.V.; GODINA, B.; BLANCO, E.; SERDA, R. E. Enabling individualized therapy through nanotechnology. **Pharmacological Research**, v.62, p.57–89, 2010.

SANJAI, C.; KOTHAN, S.; GONIL, P.; SAESOO, S.; SAJOMSANG, W. Chitosan-triphosphate nanoparticles for encapsulation of super-paramagnetic iron oxide as an MRI contrast agent. **Carbohydrate Polymers**, v.104, p.231–237, 2014.

SANTOS, P. T. A. **Síntese por Reação de Combustão e Caracterização de Ferrita Ni-Zn dopada com Íons Cu^{2+} e Al^{3+}** . Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais), Universidade Federal de Campina Grande, 106 p. Campina Grande, 2011.

SANTOS, P. T. A.; ARAÚJO, P. M. A. G.; COSTA, A. C. F. M.; CORNEJO, D. R. Magnetic Study of Nanoferritas CoFe_2O_4 Obtained by Reaction of Combustion. **Materials Science Forum**, 798-799,402-406, 2014.

SARASWATHY, A.; SHAIJU. S. N.; NIRMALA, N.; SABAREESWARAN, A.; SACHIN, J. S.; RAMAPURATH, S. J. Synthesis and characterization of dextran stabilized superparamagnetic iron oxide nanoparticles for in vivo MR imaging of liver fibrosis. **Carbohydrate Polymers**, v.101, p.760– 768, 2014.

SEDLAI, M.; MATEJEC, V.; GRYGAR, T.; KADLECOVA, J. Sol-gel processing and magnetic properties of nickel zinc ferrite thick films. **Ceramics International**, v.26, p. 507- 512, 2000.

SEKHON, B. S.; KAMBOJ, S. R. Inorganic nanomedicine- Part 1. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v.6, p. 516–522, 2010.

SHARIFI, I.; SHOKROLLAHI, H.; AMIRI, S. Ferrite-based magnetic nanofluids used in hyperthermia applications. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 324, p.903–915, 2012.

SHARMIN, N.; KHAN, R. A.; DUSSAULT, D. S.; STEPHANE, AKTER, NOUSIN.; LACROIX, M. Effectiveness of silane monomer and gamma radiation on chitosan films and PCL-based composites. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 81, p 932–935, 2012.

SHEN, J.; CHEN, K.; LI, L.; WANG, W.; JIN, Y. Fabrication and microwave absorbing properties of (Z-type barium ferrite/silica)/polypyrrole composites. **Journal of Alloys and Compounds**, 615, 488–495, 2014.

SHEN, X.P.; WU, J. L.; BAI, S.; ZHOU, H. One-pot solvothermal syntheses and magnetic properties of graphene-based magnetic nanocomposites. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 506, p.136–140, 2010.

SHETE, P. B.; PATIL, R. M.; THORAT, N. D.; PRASAD, A.; NINGTHOUJAM, R. S.; GHOSH, S. J.; PAWAR, S. H. Magnetic chitosan nanocomposite for hyperthermia therapy application: Preparation, characterization and in vitro experiments. **Applied Surface Science**, v.288, p.149– 157, 2014.

SHINDE, S. B.; FERNANDES, C. B.; PATRAVALE, V. B. Recent trends in vitro nanodiagnostics for detection of pathogens. **Journal of Controlled Release**, 159,164–180, 2012.

SHUNDO, C.; ZHANG, H.; NAKANISHI, T.; OSAKA, T. Cytotoxicity evaluation of magnetite (Fe_3O_4) nanoparticles in mouse embryonic stem cells. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 97, p. 221– 225, 2012.

SILVA, F. H. M. **Estudo da estrutura local de nanopartículas de ferrita de manganês por xanes e difração de nêutrons e raios x**. Dissertação, Instituto de Física, Universidade de Brasília, 99 p. Brasília, 2011.

SILVA, O. B.; FILHO, E. C. S.; FONSECA, M. G.; ARAKAKI, L. N.H., AIROLDI, C. Hydroxyapatite organofunctionalized with silylating agents to heavy cation removal. **Journal of Colloid and Interface Science**, 302, p. 485, 2006.

SILVÉRIO, F. **Preparação e Caracterização de Materiais Híbridos formados pela interação entre Hidróxidos Duplos Lamelares e Siliconas Aniônicas**. Tese, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 107p., 2009.

SINNECKER J. P. Materiais Magnéticos Doces e Materiais Ferromagnéticos Amorfos. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 22, n. 3, p. 396 – 405, 2000.

SIVASAI, B.; RAJASHEKAR, R.; HONGWANG, W.; THILANI, S.N.; RAJ KUMAR, D.; MARLA, P.; FRANKLIN, K.O.; BRANDON, W.; XIAOXUAN, L.; OLGA, K.B.; MASAACKI, T.; VIKTOR, C.; STEFAN, B.H.; DERYL, T.L. A/C magnetic hyperthermia of melanoma mediated by iron(0)/iron oxide core/shell magnetic nanoparticles: a mouse study. **BMC Cancer**, v. 10, p. 1–9, 2010.

SLÜTTER, B.; SOEMA, P. C.; DING, Z.; VERHEUL, R.; HENNINK, W.; JISKOOT, W. Conjugation of ovalbumin to trimethyl chitosan improves immunogenicity of the antigen. **Journal of Controlled Release**, v. 143, p.207– 214, 2010.

SONG, W.; CAO, M.; QIAO, B.; HOU, Z.; LU, M.; WANG, C.; YUAN, J.; LIU, D.; FAN, L. Nano-scale and micron-scale manganese dioxide vs corresponding paraffin composites for electromagnetic interference shielding and microwave absorption. **Materials Research Bulletin**, 51, 277–286, 2014.

SOUZA, D. M.; ANDRADE, A. L.; FABRIS, J. D.; VALERIO, P.; GOES, A.M.; LEITE, M. F.; DOMINGUES, R. Z. Synthesis and in vitro evaluation of toxicity of silica-coated magnetite nanoparticles, **Journal Non-Crystalline Solids**, v. 354, p.4894–4897, 2008.

SUN, L.; ZANG, Y.; SUN, M.; WANG, H.; ZHU, X.; XU, S.; YANG, Q.; LI, Y.; SHAN, Y. Synthesis of magnetic and fluorescent multifunctional hollow silica nanocomposites for live cell imaging. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 350, p. 90–98, 2010.

SUNDAR, S.; MARIAPPAN, R.; PIRAMAN, S. Synthesis and characterization of amine modified magnetite nanoparticles as carriers of curcumin-anticancer drug. **Powder Technology**, 266, 321–328, 2014.

SUTO, M.; HIROTA, Y.; MAMIYA, H.; FUJITA, A.; KASUYA, R.; TOHJI, K.; JEYADEVAN, B. Heat dissipation mechanism of magnetite nanoparticles in magnetic fluid hyperthermia. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 321, p.1493–1496, 2009.

TANG, Y.; WANG, X.; ZHANG, Q.; LI, Y.; WANG, H. Fabrication and characterization of high solid content $\text{Co}_{0.8}\text{Ni}_{0.2}\text{Fe}_2\text{O}_4/\text{PVP}$ composite nanofibers by direct-dispersed electrospinning, **Synthetic Metals**, v. 162, p. 309– 313, 2012.

TARJAT, P.; MORALES, M. DEL P.; VEINTEMILLAS-VERDAGUER, S.; GONZÁLEZ-CARREÑO, T.; SERNA, C.J. The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. **Journal of applied Physics**, v. 36, p. 182-197, 2003.

TAYLOR, J. I.; HURST, C. D.; DAVIES, M. J.; SACHSINGER, N.; BRUCE, I. J. Application of magnetite and silica–magnetite composites to the isolation of genomic DNA. **Journal of Chromatography A**, v. 890, p.159–166, 2000

TOMITAKA, A.; KOSHI, T.; HATSUGAI, S.; YAMADA, T.; TAKEMURA, Y. Magnetic characterization of surface-coated magnetic nanoparticles for biomedical application. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 323, p.1398–1403, 2011.

TSAY, C. Y.; LIU, K. S.; LIN, T. F.; I. N. LIN. Microwave sintering of NiCuZn ferrites and multiplayer chip inductors. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 209, p. 189-192, 2000.

VEISEH, O.; GUNN, J. W.; ZHANG, M. Design and fabrication of magnetic nanoparticles for targeted drug delivery and imaging. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 2009.

VENDITTO, V. J.; SZOKA, F. C. Adv. Cancer Nanomedicines: So Many Papers and So Few Drugs. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 65, 80, 2013.

VIEIRA, D. A. **Síntese por energia de microondas de ferritas Ni-Zn**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de

Materiais), Universidade Federal de Campina Grande, 110 p. Campina Grande, 2009.

VISWANATHAN, K. Preparation and characterization of fluorescent silica coated magnetic hybrid nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 386, p. 11– 15, 2011.

WANG, B-L.; LIU, X-S.; JI, Y.; REN, K-F.; JI, JIAN. Fast and long-acting antibacterial properties of chitosan-Ag/polyvinylpyrrolidone nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p. 8-15, 2012.

WANG, H.; HUANG, J.; WANG, C.; LI, D.; DING, L.; HAN, Y. Immobilization of glucose oxidase using $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{SiO}_2$ nanoparticles as carrier. **Applied Surface Science**, v. 257, p. 5739-5745, 2011.

WANG, W.; VAUGHN, M. W. Morphology and Amine Accessibility of (3-Aminopropyl) Triethoxysilane Films on Glass Surfaces. **Scanning**, v. 30, p. 65–77, 2008.

WIJAYA, A.; BROWN, K.A.; ALPER, J.D.; SCHIFFERLI, K.H. Magnetic field heating study of Fe-doped Au nanoparticles. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 309, p. 15–19, 2007.

WOOD, J. Biomolecular machine provides alternative to PCR: Nanobiotechnology. **Nano Today**, v. 1 (2), p.10, 2006.

WU, H.; LIU, G.; WANG, X.; ZHANG, J.; CHEN, Y.; SHI, J.; YANG, H.; HU, H.; XIAO, S. H.; LUO, K.; ZHANG, L. The structural and magnetic properties of cobalt ferrite nanoparticles formed in situ in silica matrix. **Materials Chemistry Physics**, v. 123, p. 385–389, 2010.

XIA, W.; LIU, P.; ZHANG, J.; CHEN, J. Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 170- 179, 2011.

YANG, F.; JIN, C.; SUBEDI, S.; LEE, C. L.; WANG, Q.; JIANG, Y.; LI, JI.; DI, Y.; FU, D. Emerging inorganic nanomaterials for pancreatic cancer diagnosis and treatment. **Cancer Treatment Reviews**, v. 38, p. 566–579, 2012.

YAO, C.; TONG, Y. Lanthanide ion-based luminescent nanomaterials for bioimaging. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 39, p. 60-71, 2012.

YARDIMCI, F. S.; ŞENEL, M.; BAYKAL, A. Amperometric hydrogen peroxide biosensor based on cobalt ferrite–chitosan nanocomposite. **Materials Science and Engineering C**, v. 32, p. 269–275, 2012.

YIN, D.; ZHANG, L.; LIU, B.; ZHANG, L.; YAN, H. Time-Resolved Fluorescence Immunoassay of Mouse IgG using Europium (III) Chelatedoped Silica Nanoparticles. **Nano Biomedicine and Engineering**, v. 3, n. 1, p. 25-28, 2011.

YU, T.; Yu, T.; Shen, Z. X.; Shi, Y.; Ding, J. Cation Migration and Magnetic ordering in Spinel CoFe_2O_4 powder: Micro-Raman Scattering Study. **Journal of Physics: Condensed Matter**, v. 14, p. L613–L618, 2002.

YUWEI, C.; JIANLONG, W. Preparation and characterization of magnetic chitosan nanoparticles and its application for Cu(II) removal. **Chemical Engineering Journal**, v. 168, p. 286–292, 2011.

ZAH, S.; HASHIM, M.; DAUD, R. A. Synthesis, magnetic properties and microstructure of Ni–Zn ferrite by sol–gel technique. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 308, p. 177–182, 2007.

ZELAZOWSKA, E.; RYSIAKIEWICZ-PASEK, E.; BORCZUCH-LACZKA, M.; CHOLEWA-KOWALSKA, K. Sol–gel derived hybrid materials doped with rare earth metal ions. **Optical Materials**, v. 33, p. 1931–1937, 2011.

ZHAO, D.; HUANG, W.; RAHAMAN C, M. N.; DAY, D. E.; WANG, D.; GU, Y. Preparation and characterization of composite microspheres for brachytherapy and hyperthermia treatment of cancer. **Materials Science and Engineering C**, v. 32, p. 276–281, 2012.

ZHAO, D.L.; WANG, X.X.; ZENG, X.W.; XIA, Q.S.; TANG, J.T.; Preparation and inductive heating property of Fe₃O₄–chitosan composite nanoparticles in an AC magnetic field for localized hyperthermia. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 477, p. 739–743, 2009.

ZHOU, Z.; JIANG, F.; LEE, T.; YUE, T. Two-step preparation of nano-scaled magnetic chitosan particles using Triton X-100 reversed-phase water-in-oil microemulsion system. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 581, p. 843–848, 2013.

ANEXO

As Figuras A1, A2, A3, A4, A5 e A6 correspondem aos difratogramas de raios X para as ferritas $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ e CoFe_2O_4 como sintetizadas, silanizadas com APTS e após funcionalização com quitosana realizadas em triplicata para cada amostra.

Figura A1 – Difratogramas de raios X experimentais e o padrão JCPDS das ferritas $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ como sintetizadas realizada em triplicata NZ_1 , NZ_2 e NZ_3 .

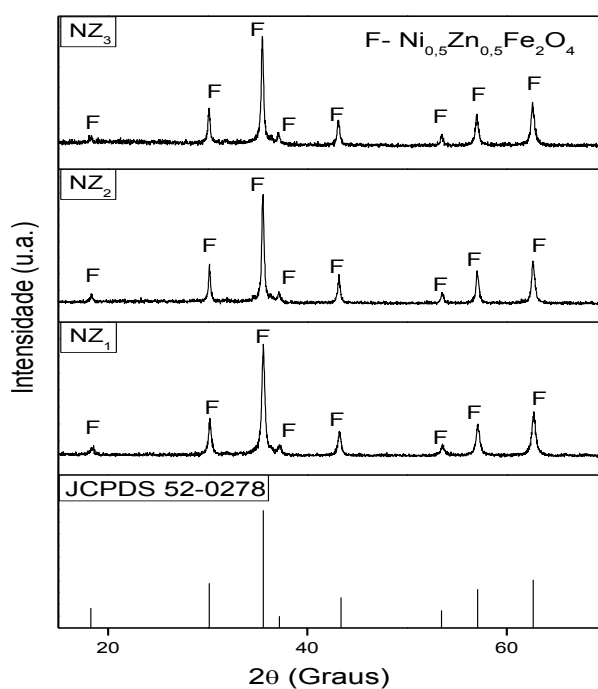


Figura A2 – Difratogramas de raios X experimentais e o padrão JCPDS das ferritas $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ silanizadas com APTS realizada em triplicata NZS_1 , NZS_2 e NZS_3 .

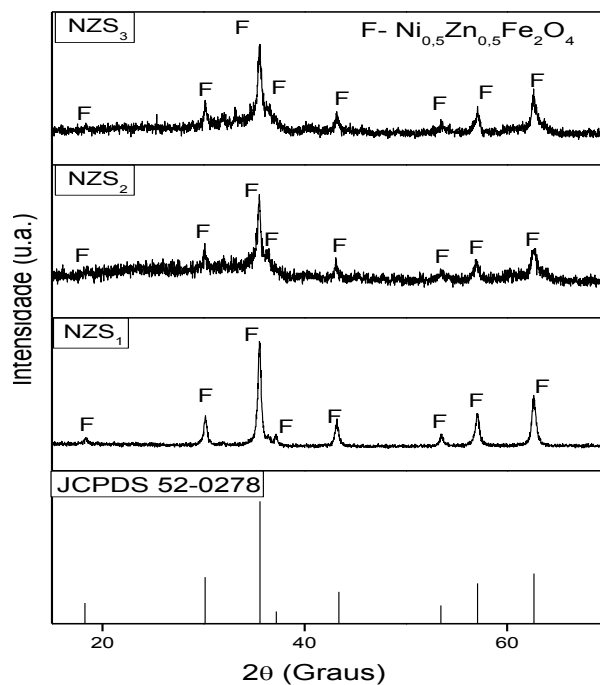


Figura A3 – Difratogramas de raios X experimentais e o padrão JCPDS das ferritas $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$ funcionalizadas com quitosana realizada em triplicata NZQ_1 , NZQ_2 e NZQ_3 .

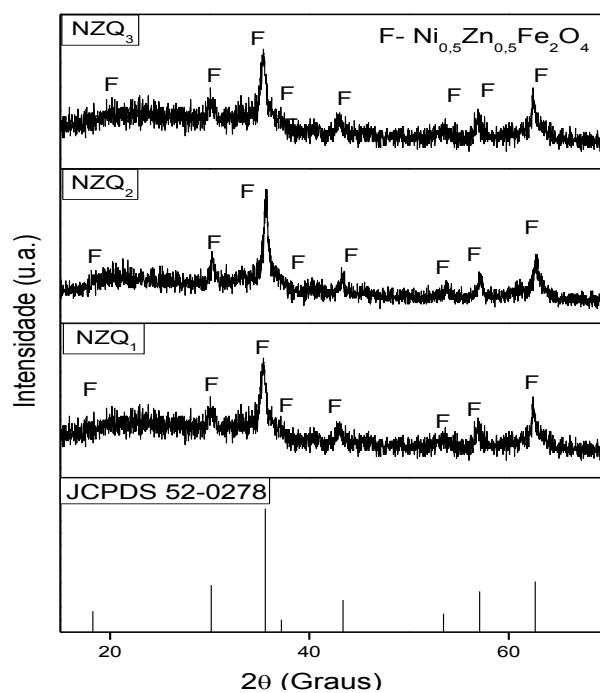


Figura A4 – Difratomogramas de raios X experimentais e o padrão JCPDS das ferritas CoFe_2O_4 como sintetizadas realizada em triplicata Co_1 , Co_2 e Co_3 .

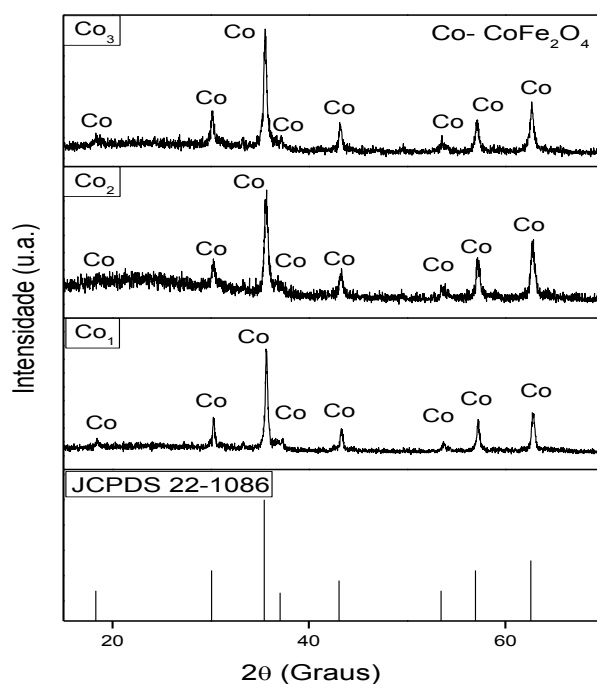


Figura A5 – Difratomogramas de raios X experimentais e o padrão JCPDS das ferritas CoFe_2O_4 silanizadas com APTS realizada em triplicata CoS_1 , CoS_2 e CoS_3 .

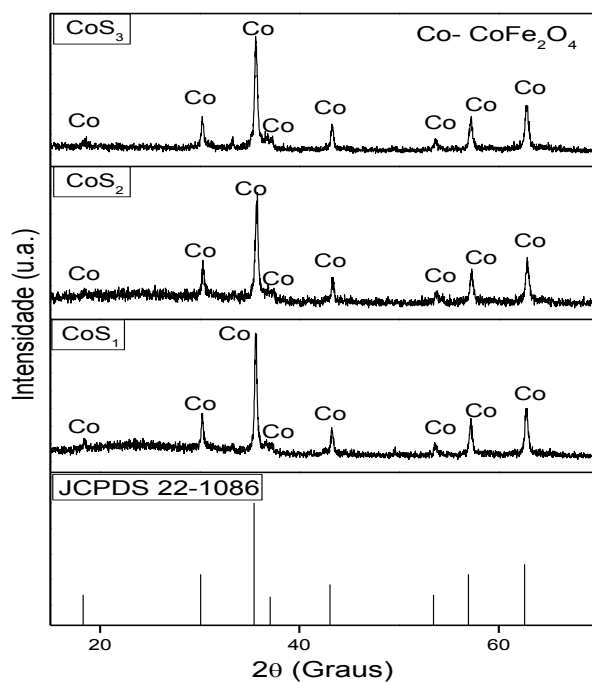
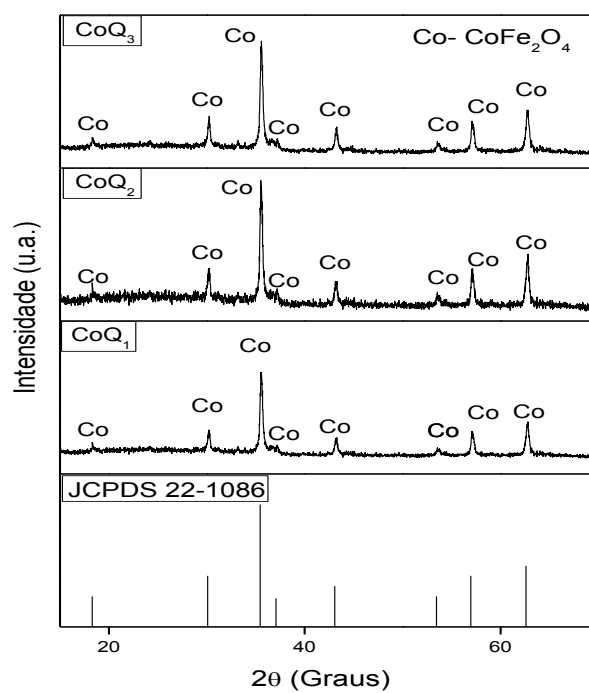


Figura A6 – Difratomogramas de raios X experimentais e o padrão JCPDS para as ferritas CoFe_2O_4 funcionalizada com quitosana realizada em triplicata CoQ_1 , CoQ_2 e CoQ_3 .

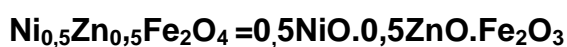


APÊNDICE

Cálculos teóricos da análise semiquantitativa determinados por EDX referentes aos percentuais de cada óxido presente para os sistemas estudados.

✓ Para $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$

1º) Com base nos dados das massas molares de cada componente químico presente, calculou-se a massa molecular total da ferrita $\text{Ni}_{0,5}\text{Zn}_{0,5}\text{Fe}_2\text{O}_4$, como abaixo:



- $0,5\text{NiO} = 0,5 \text{ mol} \times (58,71 + 16,00) \text{ g/mol} = 37,355 \text{ g}$
- $0,5\text{ZnO} = 0,5 \text{ mol} \times (65,37 + 16,00) \text{ g/mol} = 40,685 \text{ g}$
- $\text{Fe}_2\text{O}_3 = 1 \text{ mol} \times [(2 \times 55,85) + (3 \times 16,00) \text{ g/mol}] = \underline{159,700 \text{ g}}$

Massa total

237,74 g

2º) Calculou-se o valor percentual de cada óxido que compõem a composição C0 pela seguinte equação:

$$\% \text{ XO} = \frac{M_X}{M_T} \cdot 100$$

Em que:

$\text{XO} \rightarrow$ composto óxido

$M_X \rightarrow$ massa do composto óxido

$M_T \rightarrow$ massa total da composição

Obtendo-se os seguintes resultados:

- $\text{NiO} = 15,712 \%$
- $\text{ZnO} = 17,113 \%$
- $\text{Fe}_2\text{O}_3 = 67,174 \%$

✓ **Para CoFe_2O_4**

1º) Com base nos dados das massas molares de cada componente químico presente, calculou-se a massa molecular total da ferrita CoFe_2O_4 , como abaixo:



- $\text{Co}_2\text{O}_3 = 1 \text{ mol} \times (2 \times 58,93) + (3 \times 16,00) \text{ g/mol} = 165,860 \text{ g}$
- $\text{Fe}_2\text{O}_3 = 1 \text{ mol} \times (2 \times 55,85) + (3 \times 16,00) \text{ g/mol} = \underline{159,700 \text{ g}}$

Massa total 325,560 g

Calculando o valor percentual de cada óxido:

$$\% \text{ XO} = \frac{M_x}{M_t} \cdot 100$$

Obtendo-se os seguintes resultados:

- $\text{Co}_2\text{O}_3 = 50,946 \%$
- $\text{Fe}_2\text{O}_3 = 49,054\%$